

Université de Montréal

**Mortalité et activation immunitaire chronique chez les
personnes vivant avec le VIH naïves de traitement
antirétroviral en Afrique de l'Ouest**

par

Assane DIOUF

Département de Médecine Sociale et Préventive
École de Santé Publique de l'Université de Montréal

Thèse présentée
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph. D.)
en Santé Publique
option Épidémiologie

Août, 2017

© Assane Diouf, 2017

Résumé

L'infection à VIH est un problème de santé publique majeur en Afrique Subsaharienne (ASS) qui supporte 75% du fardeau lié au VIH/sida pour 13% de la population mondiale. L'ASS a pu bénéficier des avancées importantes comme le traitement antirétroviral (TARV), ce qui a amélioré les indicateurs de performance dans la lutte contre le VIH bien que certaines zones comme l'Afrique de l'Ouest soient à la traîne. Les interventions y sont essentiellement guidées par les recommandations de l'Organisation mondiale de la Santé basées sur des données issues de contextes différents des contextes réels des pays à ressources limitées (PRL). Les données observationnelles y sont rares, spécialement pour les personnes vivant avec le VIH (PVVIH) avec des niveaux de CD4 élevés. Par exemple, les nouvelles recommandations en faveur de l'initiation du TARV pour toute PVVIH quel que soit son niveau de CD4 restent à être validées dans les PRL. La mortalité et l'activation immunitaire chronique (AIC) sont aussi deux sujets importants dans ces populations. L'AIC joue un rôle central dans la progression du VIH; ainsi que le sérotype viral. Par ailleurs, une AIC est rapportée chez les exposés séronégatifs (ESN) comme les partenaires séronégatifs dans les couples hétérosexuels sérodiscordants (CHSD). L'ampleur de cette AIC et sa relation avec l'exposition sexuelle au VIH (ESVIH) ont été très peu étudiées en Afrique. Il en est de même pour l'association entre l'AIC et la vaccination contre la variole (VCV) malgré plusieurs études qui ont rapporté une association positive entre cette vaccination et le système immunitaire des PVVIH.

Cette thèse avait trois objectifs : 1) décrire la mortalité chez les PVVIH naïves de TARV en Afrique de l'Ouest avec un niveau de CD4 initial (à l'entrée dans la cohorte) $\geq 350/\mu\text{L}$ et évaluer son association avec ce niveau de CD4, le sérotype viral et le niveau initial d'AIC; 2) comparer le niveau d'AIC des ESN à celui des PVVIH et des contrôles séronégatifs puis évaluer son association avec l'ESVIH; 3) évaluer l'association entre la VCV et l'AIC chez des PVVIH naïves de TARV.

Pour l'objectif 1, une étude de cohorte a été menée avec des analyses prenant en compte un risque compétitif (régression de Fine-Gray) et des analyses de survie classique (courbe Kaplan-Meier et régression de Cox) qui ont permis d'estimer respectivement les Hazard ratios de sous-distribution (sHR) et les Hazard ratios traditionnels (HR). Deux études

transversales analytiques ont été effectuées (pour chacun des objectifs 2 et 3) avec des modèles de régression logistique et linéaire. Les modèles multivariés ont estimé les risques relatifs ajustés en utilisant la méthode du changement des estimés (>10%) en considérant certaines co-variables comme l'âge, le sexe, le niveau d'éducation et la période d'inclusion. La bêta-2-microglobuline ($\beta 2m$) a été utilisée comme marqueur soluble d'AIC.

L'étude de cohorte (objectif 1) qui a porté sur 908 PVVIH gambiennes naïves de TARV avec un niveau de CD4 initial $\geq 350/\mu L$ a montré un taux d'incidence de décès de 7,5/100 personnes-années (intervalle de confiance à 95% (IC 95%): 6,3-8,9). Le risque de décès était plus élevé pour un niveau de CD4 entre 350-499 par rapport à un niveau de CD4 ≥ 500 (HR ajusté=1,49; IC95%: 1,07-2,07). Par rapport au VIH-2, la mortalité était plus élevée pour le VIH-1 et pour la co-infection VIH-1+2 (HRa=1,66; IC95%: 1,26-2,81 et 2,15; IC95%: 1,24-3,73, respectivement). L'AIC était aussi associée à une mortalité plus élevée (HRa=3,23; IC95%: 2,01-5,19 pour ceux avec un $\beta 2m \geq 2,85$ mg/L comparativement à ceux avec un niveau $< 2,85$ mg/L). L'étude transversale (objectif 2) comparant 54 CHSD et 40 contrôles séronégatifs a montré que l'ESVIH était associée à un niveau d'AIC élevé ($> 2,2$ mg/L) (odds ratio (OR) ajusté=5,36; IC95%: 1,20-23,88); mais pas avec un niveau modéré ($> 1,81$ mg/L) (ORa=2,08; IC95%: 0,64-6,75). Finalement, l'étude transversale sur la VCV (objectif 3) qui a porté sur 101 PVVIH naïves de TARV n'a montré aucune association entre la VCV et l'AIC (β ajusté=-0,08; IC95%: -0,80-0,63 pour les vaccinés comparativement aux non-vaccinés).

Les résultats de cette thèse suggèrent que la mortalité chez les PVVIH serait réduite par une initiation plus précoce du TARV et par une plus faible AIC mais ne suggèrent pas qu'une infection par le VIH-2 ralentit la progression de l'infection par le VIH-1. Ces résultats permettent aussi de générer des hypothèses sur deux profils d'ESN : les « immunoquiescents » qui pourraient présenter des corrélats de protection contre l'infection à VIH et les « immunostimulables » dont le niveau d'AIC dépend de l'ESVIH. Finalement, la VCV chez les PVVIH ne serait pas associée à la progression du VIH à travers l'AIC. Nos résultats sont trouvés dans un contexte réel avec des mesures techniquement et financièrement accessibles dans les PRL. Ils devraient être facilement reproductibles dans les systèmes de santé des PRL.

Mots-clés : VIH, mortalité, CD4, activation immunitaire, sérotype viral, exposition sexuelle, vaccination contre la variole, Afrique occidentale.

Abstract

HIV/AIDS is a major public health problem in Sub-Saharan Africa, which accounts for 75% of the burden of HIV/AIDS in 13% of the world's population. Sub-Saharan Africa has benefitted from major advances in the fight against HIV/AIDS, including antiretroviral therapy (ART). This has helped to improve performance indicators in the fight against HIV/AIDS, although some areas such as West Africa have lagged behind. Interventions are mainly guided by the World Health Organization recommendations, which are based on evidence obtained in settings that differ from real-life in resource-limited settings (RLS). Observational data are scarce, particularly in ART-naïve people living with HIV (PLHIV) with high CD4 cell counts. For example, the new recommendations for initiating ART for all PLHIV regardless of CD4 cell counts remain to be validated in RLSs. Mortality and chronic immune activation (CIA) are also two important topics in this population. CIA plays a central role in the progression of HIV as well as other factors such as viral serotype. A certain level of CIA has been reported in exposed seronegative (ESN) people such as seronegative partners in serodiscordant couples. The extent of CIA and its relationship to sexual exposure to HIV (SEHIV) has been little studied in West Africa. The same holds true for the association between CIA and smallpox vaccination (SPV) despite several studies that have reported a positive association between this vaccination and the immune system of PLHIVs.

This thesis had three objectives: 1) to describe mortality in ART-naïve PLHIVs with a baseline (at entry in the cohort) CD4 cell counts $\geq 350/\mu\text{L}$ in West Africa, and to assess its association with these CD4 cell counts, the viral serotype and the CIA level at the entry in the cohort; 2) to compare the level of CIA of ESNs with those of PLHIVs and seronegative controls and then to assess its association with SEHIV in ESNs and seronegative controls; 3) to evaluate the association between SPV and CIA in ART-naïve PLHIVs.

For objective 1, a cohort study has been undertaken with competitive risk analyzes (Fine-Gray regression for competing risk) and classical survival analyzes (Kaplan Meier and Cox models) which allow estimating respectively the sub-distribution Hazard ratio (sHR) and the Hazard ratio (HR). Two analytical cross-sectional studies have also been undertaken (for each objective 2 and 3) with logistic regression models and linear regression models. The

multivariate regression models allowed estimating the adjusted relative risks using a 10% change in estimate method considering some co-variables such as age, sex, education level and inclusion period. We used beta-2-microglobulin (β_2m) as soluble marker of CIA.

The cohort study (objective 1) that included 908 Gambian ART-naïve PLHIVs with CD4 cell count $\geq 350/\mu L$ at the entry in the cohort has found a death incidence rate of 7.5/100 person-years (95% confidence interval (95% CI)= 6.3-8.9). The risk of death was higher at CD4 cell count 350-499 compared to CD4 cell count ≥ 500 (adjusted HR= 1.49; 95% CI: 1.07-2.07). Compared to HIV-2, mortality was higher for HIV-1 and HIV-1+2 co-infection (adjusted HR=1.66; 95% CI: 1.26-2.81 and 2.15; 95% CI: 1.24-3.73, respectively). A high level of CIA was also associated with a higher risk of death (adjusted HR=3.23; 95% CI: 2.01-5.19 for those with a level of $\beta_2m \geq 2.85$ mg/L compared to those with a level < 2.85 mg/L). The cross-sectional study (objective 2) comparing 54 heterosexual serodiscordant couples to 40 seronegative controls has showed that SEHIV was associated with a high (> 2.2 mg/L) level of CIA (adjusted odds ratio (OR)=5.36; 95% CI: 1.20-23.88); but not with a moderate (> 1.81 mg/L) level of CIA (adjusted OR=2.08; 95% IC: 0.64-6.75). Finally, for the cross-sectional study on smallpox vaccination (objectif 3) which included 101 ART-naïve PLHIVs, we did not find any association between SPV and CIA (adjusted $\beta = -0.08$; 95% CI: -0.80-0.63 for those who have been vaccinated compared to those who have not been vaccinated).

The results of this thesis suggest that earlier initiation of ART could reduce mortality among PLHIVs in West Africa. Low level of CIA could also reduce mortality. However, the results do not suggest that HIV-2 infection slows HIV-1 disease progression. The results also allow us to generate hypotheses on two ESN profiles: “immunoquiescent” which could have correlates of protection against HIV infection and “immunosusceptible” whose level of CIA depends on SEHIV. Finally, SPV would not appear to be associated with HIV progression through its impact on CIA. Our results are produced in a “real-life” context with technically and financially accessible measures in RLSs. They might be easily reproducible in the health systems of RLSs.

Keywords: HIV, mortality, CD4, immune activation, viral serotype, sexual exposure, smallpox vaccination, West Africa.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures	xi
Liste des abréviations et sigles.....	xii
Remerciements.....	xvi
Introduction.....	1
1. État des connaissances	6
1.1. Le point sur l'épidémie de l'infection à VIH.....	6
1.2. La mortalité et ses déterminants au cours de l'infection à VIH.....	10
1.2.1. Mortalité et niveau de CD4.....	10
1.2.2. Mortalité et sérotype viral.....	18
1.2.3. Autres déterminants de la mortalité au cours de l'infection à VIH	22
1.3. Activation immunitaire chronique au cours de l'infection à VIH	22
1.3.1. Définition	22
1.3.2. Physiopathologie.....	22
1.3.3. Marqueurs	26
1.3.4. Importance clinique	28
1.3.5. Activation immunitaire chronique chez les couples sérodiscordants	31
1.3.6. Activation immunitaire chronique et vaccination contre la variole.....	34
2. Objectifs et questions de recherche.....	39
2.1. Objectifs.....	39
2.2. Questions de recherche	39
3. Méthodes.....	41
3.1. Contexte de la thèse	41
3.2. Objectif 1	41
3.2.1. Type d'étude	42
3.2.2. Population d'étude	42

3.2.3.	Cadres conceptuels et mesures.....	42
3.2.4.	Analyse des données	44
3.3.	Objectif 2	47
3.3.1.	Type d'étude	47
3.3.2.	Population d'étude	48
3.3.3.	Cadres conceptuels et mesures.....	48
3.3.4.	Analyses de données	49
3.4.	Objectif 3	50
3.4.1.	Type d'étude	50
3.4.2.	Population d'étude	50
3.4.3.	Cadres conceptuels et mesures.....	51
3.4.4.	Analyses des données	52
3.5.	Aspects éthiques et réglementaires	52
4.	Résultats.....	53
4.1.	Article 1 : Mortalité chez les PVVIH naïves de TARV avec un niveau de CD4 > 350/μL en Afrique de l'ouest.....	53
4.2.	Article 2 : Activation immunitaire et exposition sexuelle chez les couples VIH sérodiscordants au Sénégal	87
4.3.	Article 3 : Vaccination contre la variole et activation immunitaire chronique chez les PVVIH naïves de TARV	111
5.	Discussion	140
5.1.	Difficultés en rapport avec la thèse.....	141
5.2.	Retour et discussion sur l'objectif 1.....	142
5.2.1.	Forces et faiblesses	143
5.2.2.	Biais de sélection	145
5.2.3.	Biais d'information	145
5.2.4.	Confusion.....	146
5.2.5.	Validité externe.....	147
5.3.	Retour et discussion sur l'objectif 2.....	148
5.3.1.	Forces et faiblesses	148
5.3.2.	Biais de sélection	149

5.3.3.	Biais d'information	150
5.3.4.	Confusion.....	151
5.3.5.	Validité externe.....	151
5.4.	Retour et discussion sur l'objectif 3.....	151
5.4.1.	Forces et faiblesses	152
5.4.2.	Biais de sélection	152
5.4.3.	Biais d'information	153
5.4.4.	Biais de publication.....	153
5.4.5.	Confusion.....	154
5.4.6.	Validité externe.....	154
6.	Conclusion	155
7.	Bibliographie.....	160
8.	Annexes.....	i
8.1.	Annexe 1 : cicatrices de vaccination contre la variole.....	i
8.2.	Annexe 2 : Description des cohortes WAPHIR.....	ii
8.2.1.	Objectifs.....	ii
8.2.2.	Introduction.....	ii
8.2.3.	Cohorte de Fajara	iii
8.2.4.	Cohorte des travailleuses du sexe de Dakar.....	xi
8.2.5.	Cohorte Caio	xvii
8.2.6.	Références bibliographiques :	xxiv
8.3.	Annexe 3 : Classifications cliniques de l'infection à VIH.....	xxvi
8.3.1.	Classification du CDC 1993	xxvi
8.3.2.	Classification OMS des stades cliniques de l'infection à VIH de l'adulte ...	xxvii
8.4.	Annexe 4 : Calculs des tailles d'échantillons et des puissances	xxix
8.4.1.	Objectif 1	xxix
8.4.2.	Objectif 2	xxx
8.4.3.	Objectif 3	xxxiii
8.5.	Annexe 5: Cadres conceptuels	xxxvi
8.5.1.	Objectif 1	xxxvi
8.5.1.	Objectif 2	i

8.5.1.	Objectif 3	iv
8.6.	Annexe 6 : Formulaire de recueil des données pour l'objectif 2	vi
8.7.	Annexe 7 : Formulaire de recueil des données pour l'objectif 3	ix

Liste des tableaux

État des connaissances

Tableau I. Marqueurs cellulaires de l'activation immunitaire au cours de l'infection à VIH (liste non exhaustive)	26
Tableau II. Marqueurs solubles de l'activation immunitaire chronique au cours de l'infection à VIH (liste non exhaustive).....	28

Article 1

Table 1. Baseline characteristics of the study population.....	61
Table 2. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of baseline CD4 cell counts stratum on mortality	64
Table 3. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of HIV serotype on mortality	66
Table 4. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of $\beta 2m$ level on mortality.....	68
Table 5. Baseline characteristics of lost to follow up compared to the rest of the population .	80
Table 6. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of CD4 cell counts on mortality considering lost to follow up as alive	81
Table 7. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of HIV serotype on mortality considering lost to follow up as alive	82
Table 8. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of $\beta 2m$ level on mortality considering lost to follow up as alive.....	83
Table 9. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of CD4 cell counts on mortality considering lost to follow up as deceased.....	84
Table 10. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of HIV serotype on mortality considering lost to follow up as deceased.....	85
Table 11. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of $\beta 2m$ level on mortality considering lost to follow up as deceased	86

Article 2

Table 1. Characteristics of the study population by study group (HIV-, HESN and HIV+)..	103
Table 2. Logistic regression model evaluating the association between β_2m level and study group	105
Table 3. Logistic regression model evaluating the association between a β_2m mh (moderate to high versus low using the median as the cutting point) and the SEHIV.....	106
Table 4. Logistic regression model evaluating the association between a β_2m h (high versus low using the up quartile as the cutting point) and the SEHIV	107
Table 5. Linear regression models evaluating evaluating the association between β_2m level (continuous) and study group.....	108
Table 6. Linear regression model evaluating the association between β_2m (continuous) and the SEHIV	109

Article 3

Table 1. Characteristics of the study population by the presence of a smallpox vaccine scar	132
Table 2. Logistic regression models evaluating the effect of smallpox scar on a β_2m level ≥ 2.59 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980	133
Table 3. Logistic regression models evaluating the effect of smallpox scar on a β_2m level ≥ 4.73 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980	134
Table 4. Linear regression models evaluating the effect of smallpox scar on a β_2m level (continuous) among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980	135
Table 5. Logistic regression models evaluating the effect of smallpox scar on a β_2m level ≥ 2.59 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1974.....	137
Table 6. Logistic regression models evaluating the effect of a smallpox vaccine scar and BCG vaccine scar on a β_2m level ≥ 2.59 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980.....	138
Table 7. Logistic regression models evaluating the effect of multiple smallpox vaccine scars on a β_2m level ≥ 2.59 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980	139

Liste des figures

État des connaissances

Figure 1. Évolution de l'incidence et de la mortalité liée au VIH dans le monde. Adapté d'après (UNAIDS, 2017b).	8
Figure 2. Évolution du niveau des « 90-90-90 » dans les différentes régions OMS en juin 2017. Adapté d'après (UNAIDS, 2017b).	10
Figure 3. Niveau des financements disponibles pour la lutte contre le VIH pour les PRL et intermédiaires selon la source. Adapté d'après (UNAIDS, 2017a).	16
Figure 4. Causes et conséquences de l'activation immunitaire au cours de l'Infection à VIH. Adapté d'après (Appay et Sauce, 2008).	25

Article 1

Figure 1. Cumulative incidences by competing risks estimation methods.	62
---	----

Article 2

Figure 1. The median values of $\beta 2m$ by study group: the HIV Negative Controls (n = 40), the Highly Exposed Seronegative (n = 54) and the HIV positive partners (n = 54). The comparisons of the median values were done by Mann Whitney/Wilcoxon test after a significant Kruskal Wallis test.	110
---	-----

Article 3

Figure 1. Median $\beta 2m$ level by smallpox scar status (absence versus presence) among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980.	136
---	-----

Liste des abréviations et sigles

ADN	Acide désoxyribonucléique
aHR	Adjusted hazard ratio
AI	Activation immunitaire
AIC	Activation immunitaire chronique
AIDS	Acquired Immuno Deficiency Syndrome
ANRS	Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les Hépatites virales
ARN	Acide ribonucléique
ART	Antiretroviral Therapy
ARV	Antirétroviral
bCD4	Baseline CD4
BCG	Bacille de Calmette et Guérin
BHP	Bandim Health Project
BLV	Bovine Leukaemia Virus
CASCADE	Concerted Action on SeroConversion to AIDS and Death in Europe
CD	Cluster of Differentiation
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CHIC	Collaborative HIV Cohort
CHNU	Centre hospitalier national universitaire
CHSD	Couple hétérosexuel sérodiscordant
CHU	Centre hospitalier universitaire
CIA	Chronic Immune Activation
CMV	Cytomégalovirus
CNERS	Comité national d'Éthique de la Recherche en Santé
CNTS	Centre National de Transfusion Sanguine
CPS	Centre de Promotion de la Santé
CRCF	Centre régional de Recherche et Formation à la Prise en Charge du VIH et des Maladies associées
CRF	Case Report Form
CRP	C-Reactive Protein
CTA	Centre de Traitement Ambulatoire
CTAC	Cape Town AIDS Cohort
CV	Charge virale
EBV	Epstein-Barr Virus
ECR	Essai clinique randomisé
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ESN	Exposé séronégatif
ESVIH	Exposition sexuelle au VIH
FDA	Food and Drug Administration (Etats-Unis d'Amérique)

GRADE	Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation
HAART	Highly active Antiretroviral Therapy
Hb	Hémoglobine
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HIV-CAUSAL	HIV Cohorts Analyzed Using Structural Approaches to Longitudinal data
HLA-DR	Human Leukocyte Antigen – antigen D Related
HOPS	HIV Outpatient Study
HPTN	HIV Prevention Trial Network
HR	Hazard Ratio
HSH	Homme ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes
IC	Intervalle de confiance
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IEC	Information, Éducation et Communication
IFN	Interféron
IIQ	Intervalle inter quartile
IL	Interleukine
IMC	Indice de masse corporelle
IP	Interferon inductible protéine
IST	Infection sexuellement transmissible
LBV	Laboratoire de Bactériologie et Virologie
LPS	Lipopolysaccharide
MIG	Monokine induite par l'interféron- γ
MRC	Medical Research Council
MSAS	Ministère de la Santé et de l'Action Sociale
MVA	Modifed Vaccinia Virus Ankara
NA-ACCORD	North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design
OMS	Organisation mondiale de la Santé
ONUSIDA	Programme commun des Nations unies sur le VIH/sida
OR	Odds ratio
PA	Personnes-années
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells
PCR	Polymerase Chain Reaction
PD-1	Programmed cell death 1
PDV	Perdu de vue
PLHIV	People Living with HIV
PPE	Prophylaxie post exposition
PPL	Personne privée de liberté
PrEP	Prophylaxie pré-exposition
PRL	Pays à ressources limitées
PS	Professionnel(le) du sexe
PTME	Prévention de la transmission mère-enfant

PVVIH	Personne vivant avec le VIH
RLS	Resource-Limited Settings
RR	Risque relatif
sCD4	CD4 durant le suivi
SEHIV	Sexual Exposure to HIV
sHR	Sub-distribution Hazard Ratio
SMART	Strategies for the Management of AntiRetroviral Therapy
SMIT	Service des Maladies Infectieuses et Tropicales
SP	Santé publique
SPV	Smallpox vaccination
START	Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment
suPAR	Soluble urokinase-type plasminogen
TARV	Traitement antirétroviral
TEMPRANO	Early Antiretroviral Treatment and/or Early Isoniazid Prophylaxis Against Tuberculosis in HIV-infected Adults
TLR	Toll-like receptor
TNF	Tumor Necrosis Factor
TNFR	Tumor Necrosis Factor Receptor
UCAD	Université Cheikh Anta Diop
UDI	Utilisateur de drogues par injection
UNAIDS	Joint United Nations Programme on HIV/AIDS
USA	United States of America
VACV	Vaccinia Virus
VCAM	Vascular Adhesion Molecule
VCV	Vaccination contre la variole
VHC	Virus de l'Hépatite C
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VIS	Virus de l'immunodéficience simienne
WAPHIR	West African Partnership for HIV Intervention Research
WHO	World Health Organization
β2m	bêta-2-microglobulin

A ma petite famille : Awa et Lamine sources d'inspiration et de force.

A mon défunt père qui m'a indiqué la voie du travail.

A tous les participants qui ont rendu possible ces projets de recherche.

Remerciements

Ce travail ne serait jamais arrivé à terme sans vous

Ma directrice, Helen Trottier. Ces quelques lignes ne me suffiront pas pour vous exprimer ma plus profonde reconnaissance et ma gratitude. J'ai trouvé auprès de vous une personne d'une qualité humaine et scientifique impressionnante. Malgré toutes vos responsabilités, vous avez toujours été là surtout dans les moments difficiles. Votre patience, votre expertise et vos encouragements m'ont permis d'arriver au bout de cette entreprise périlleuse et difficile, mais ô combien passionnante. Votre courtoisie fait passer comme lettre à la poste votre rigueur scientifique sans concession. Merci d'avoir dirigé ce travail avec passion. D'après Friedrich Hegel, « *Rien de grand ne s'est accompli dans le monde sans passion.* ». Plus que les mots, j'espère que le résultat de ce travail aura répondu aux attentes et à la confiance placées sur ma modeste personne. Je vous souhaite tout le bonheur du monde et espère pouvoir continuer à bénéficier de vos enseignements durant les prochaines péripéties de mon parcours professionnel.

Mon codirecteur, Vinh-Kim Nguyen. Ce travail est l'occasion pour moi de saluer votre engagement et votre dévouement à la cause humaine depuis des décennies. Votre engagement dans la lutte contre le VIH et d'autres problèmes de santé publique qui concernent surtout les pays à ressources limitées forcent le respect. Votre générosité, votre ouverture d'esprit, votre simplicité et votre rigueur scientifique ont marqué ce travail. Votre volonté de transmettre votre savoir avec clarté et chaleur n'a cessé de susciter mon admiration. Comme l'a dit Nicolas Boileau « *Ce que l'on conçoit bien s'énonce clairement, et les mots pour le dire arrivent aisément.* ».

Mon superviseur, Dr Assan Jaye coordonnateur du WAPHIR (West African Partnership for HIV Intervention Research). Vous avez été à l'origine de ce projet de thèse. Vous n'avez ménagé aucun effort pour me mettre dans les meilleures conditions de réalisation de ce projet. Votre savoir-faire, votre expertise et vos qualités de manager ont significativement contribué à la réalisation de ce travail. Veuillez trouver à travers ces mots

ma reconnaissance et ma disponibilité à participer au développement de la recherche dans la sous-région et les différents réseaux de partenariat.

Au Professeur Souleymane Mboup. Après avoir présidé le jury de ma thèse de doctorat d'état en Médecine, vous me faites encore l'honneur de superviser et contribuer à mes travaux. Je vous en remercie. Vous serez toujours ma source d'inspiration et exemple à suivre.

Au Professeur Papa Salif Sow. Vous avez été au départ de ce projet, mais avez dû quitter pour d'autres défis toujours au service de la santé des populations dans les pays d'Afrique. Vous m'avez toujours encouragé et incité à l'excellence. Merci pour tout.

Au Professeur Moussa Seydi. Votre soutien et vos encouragements ont été nécessaires à la réalisation de ce travail. Vous avez constamment continué à m'encourager et à m'assister dans les moments les plus compliqués. Toute ma reconnaissance.

Je remercie encore une fois le WAPHIR, le Global Health Research Institute/International Development Research Centre (GHRI/IDRC), la Faculté des Études Supérieures et Post Doctorales (FESP) de l'Université de Montréal et le CHU de Sainte-Justine au Canada, l'Institut des Hautes Études Internationales et du Développement en Suisse, le Medical Research Council en Gambie (MRCG) et l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar d'avoir participé financièrement à la réalisation de ce projet de thèse.

Merci à l'Université de Montréal de m'avoir accueilli et offert une telle formation.

Je n'oublie pas les membres de l'équipe d'Helen au CHU Saint-Justine plus particulièrement Louise Laporte, Ndongo, Monica, Joseph, Andrèa. Nos discussions d'apprentis épidémiologistes autour du café étaient fort enrichissantes.

Merci à l'équipe du SMIT/CRCF à Dakar pour son soutien et sa disponibilité notamment Dr Tracie J Youbong, à l'équipe du MRCG surtout Mr Gilleh Thomas, au Pr Saliou Diop du CNTS de Dakar, à Dr Ndéye F Ngom-Guéye et Mr Djibril Baal du Centre de Traitement Ambulatoire, au Dr Daniel Sarr du Centre de Promotion de la Santé, au Dr Raymond Bercion, Dr Abdoulaye Seck et Mr Khadim Dramé de l'Institut Pasteur de Dakar.

MERCI à ma chérie Awa Kane Diouf, mon petit bout de chou Lamine, son homonyme Lamine aux USA, à Diarra et sa famille au Québec et la grande famille au Sénégal.

Introduction

L'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un problème majeur de santé publique. En 2016, 36,7 millions de personnes vivaient avec le VIH (PVVIH) dans le monde (UNAIDS, 2017a). L'épidémie du VIH a entraîné une mobilisation de ressources jamais vue auparavant. Ce qui a permis d'obtenir des résultats intéressants qui ont contribué à inverser la tendance des courbes de mortalité et d'incidence depuis quelques années. Le nombre annuel de décès en rapport avec l'infection à VIH à l'échelle mondiale a connu son pic en 2005 avec un total de 1,9 million. Il est passé à 1,0 million en décembre 2016; soit une réduction de 48%. Parallèlement, le nombre de nouvelles infections est passé de 3,4 millions en 2001 à 1,8 million en 2016 (UNAIDS, 2017b). Ces résultats sont essentiellement attribués à l'élargissement de l'accès au traitement antirétroviral (ARV) notamment en Afrique Subsaharienne. Ainsi en 2014, le Programme commun des Nations unies sur le VIH/sida (ONUSIDA) a émis l'objectif de mettre fin à l'épidémie du VIH à l'horizon 2030 avec comme objectifs intermédiaires « 90¹-90²-90³ » en 2020. C'est-à-dire que 90% des PVVIH connaissent leur statut, 90% d'entre elles soient sous TARV parmi lesquelles 90% en contrôle virologique. Les ressources nécessaires pour y parvenir dans les pays à revenu faible ou intermédiaire étaient estimées à 26,2 milliards en 2020 et 23,9 milliards de dollars US en 2030. En 2017, le directeur exécutif de l'ONUSIDA affirmait que la mise à disposition de ces ressources n'était pas en bonne voie. Ce déficit en investissements va surtout influencer les pays à ressources limitées (PRL) notamment ceux de l'Afrique Subsaharienne.

L'Afrique Subsaharienne joue un rôle central dans l'épidémie du VIH : elle regroupe 69,5% des PVVIH, 64% des nouvelles infections et 73% des décès liés à l'infection à VIH alors que n'y vivent que 13% de la population mondiale (Leridon, 2015; UNAIDS, 2017a). Malgré cela, certaines données y sont rares: très peu d'études y ont évalué la mortalité et la morbidité chez les PVVIH naïves de traitement ARV (TARV) avec des niveaux de CD4

¹ 90% des personnes vivant avec le VIH connaissent leur statut sérologique VIH

² 90% des personnes connaissant leur statut reçoivent un traitement antirétroviral

³ 90% des personnes sous traitement antirétroviral ont une charge virale indétectable

élevés. De telles données pourraient être utiles pour informer sur le meilleur moment pour initier le TARV dans les PRL : entre 350 et 500 CD4/ μ L ou au-delà de 500 CD4/ μ L.

En 2016, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) émettait de nouvelles recommandations en faveur de l'initiation du TARV pour toute PVVIH quel que soit son état clinique ou son niveau de CD4 (WHO, 2016) alors que les recommandations précédentes recommandaient l'initiation du TARV entre 350 et 500 CD4 et non au-delà (WHO, 2013). Les nouvelles recommandations qui évoquaient un bénéfice clinique et préventif étaient largement influencées par les résultats d'essais cliniques randomisés (ECR) (Grinsztejn et al., 2014; INSIGHT START Study Group, 2015; TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, 2015). Ce qui n'a pas mis fin au débat sur l'initiation du TARV en PRL pour plusieurs raisons notamment le bénéfice clinique minime, l'absence de différence en termes de mortalité, les implications à long terme et la validité externe de ces essais (Corrao et al., 2016; Lopez-Cortes et al., 2016; Hoy et al., 2017). En plus, les résultats de certaines études observationnelles n'étaient pas en accord avec ceux des ECR précédemment cités et recommandaient une initiation du TARV entre 350 et 500 CD4/ μ L et non au-delà de 500 CD4/ μ L (Anglemyer et al., 2014; Guiguet et al., 2008; HIV Cohorts Analyzed Using Structural Approaches to Longitudinal data (HIV-CAUSAL) Collaboration, 2011). Enfin, le TARV est un traitement à vie avec de nombreuses implications en termes d'observance, de résistances, d'effets secondaires à long terme et de coûts : coûts directs et coûts annexes de prestataires de service, d'outils de suivi, d'infrastructures sanitaires supplémentaires ainsi que leurs répercussions sur un système de santé aux ressources insuffisantes peuvent être importants et doivent être pris en compte. De ce fait, les études observationnelles réalisées dans des conditions réelles permettent d'évaluer l'impact des recommandations et la mise à l'échelle des interventions basées sur des ECR qui sont menés dans des contextes « artificiels ».

D'autres facteurs sont aussi importants dans l'évolution de l'infection comme le sérotype viral qui a été associé à la mortalité chez les PVVIH. Le VIH-2 présenterait un potentiel évolutif moins important que le VIH-1 (de Silva et al., 2008; Marlink et al., 1994). En effet, les personnes infectées par le VIH-2 auraient une probabilité de décès moins élevée que les personnes infectées par le VIH-1 (Berry et al., 2002; Hansmann et al., 2005; Poulsen et

al., 1997). La mortalité chez les personnes coinfectées par le VIH-1 et le VIH-2 a été moins étudiée, mais elle serait plus élevée que celles des personnes VIH-2 (Alabi et al., 2003). Ces dernières années, une inhibition de la progression du VIH-1 par une coinfection VIH-2 a été évoquée dans la littérature, mais n'a pas été confirmée (Esbjörnsson et al., 2012; Prince et al., 2014). L'Afrique Occidentale a la particularité d'être la seule partie du monde où l'infection par le VIH-1 et l'infection par le VIH-2 restent endémiques. L'étude de la mortalité chez les PVVIH naïves de TARV en Afrique de l'Ouest pourrait contribuer à éclairer ces questions.

Par ailleurs, l'activation immunitaire chronique (AIC) pourrait aussi être un facteur important de la progression de l'infection chez les PVVIH. Les données récentes soutiennent que l'AIC est le facteur central dans la pathogenèse du VIH (Miedema et al., 2013). Certaines études ont montré le rôle de l'AIC dans la progression de l'infection à VIH et la mortalité (Fahey et al., 1990; Liu et al., 1997; Nyamweya et al., 2012; Ullum et al., 2000). Il n'y a cependant pas de consensus sur cette question puisque d'autres études n'ont pas retrouvé cette association entre l'AIC et le décès en Afrique Subsaharienne (Hosp et al., 2000; Kerlikowske et al., 1994). L'AIC a été très peu étudiée chez les PVVIH naïves de TARV avec un niveau de CD4 élevé et dans des régions comme l'Afrique Subsaharienne.

L'AIC pourrait être influencée par plusieurs facteurs parmi lesquels les coinfections et la fréquence de l'exposition sexuelle au VIH (ESVIH) d'où des niveaux élevés rapportés en Afrique subsaharienne (Chege et al., 2012; Phillips et al., 2007; Study Group on Death Rates at High CD4 Count in Antiretroviral Naïve Patients, 2010). L'ESVIH est fréquente chez certains groupes de population comme les utilisateurs de drogues par injection (UDI), les professionnel(le)s du sexe (PS), les hommes ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes (HSH) et les couples sérodiscordants pour le VIH. Malgré cette exposition, une proportion importante des personnes exposées dans ces populations reste séronégative. Ces personnes sont qualifiées d'exposées séronégatives (ESN). Parmi les ESN, il y a tout de même des séroconversions et parmi elles en Afrique subsaharienne, un nombre important survient chez les couples hétérosexuels sérodiscordants (CHSD) (Chemaitelly et al., 2012; Dunkle et al., 2008). L'Afrique Subsaharienne a donc une population intéressante pour identifier des marqueurs de susceptibilité ou de protection contre l'infection à VIH dont le rôle potentiel de l'AIC. Une AIC muqueuse et systémique a été mise en évidence chez les ESN bien que ses

mécanismes, son rôle et ses conséquences ne soient pas totalement élucidés (Biasin et al., 2000). Des hypothèses pour expliquer cette AIC ont été évoquées dont : d'une part, le rôle de l'ESVIH et d'autre part, une moindre susceptibilité des cellules TCD4⁺ des ESN à l'infection au VIH qui feraient que les ESN ne présentent pas une AIC aberrante comme les PVVIH. L'étude de l'AIC chez les ESN, leurs partenaires infectés par le VIH et des individus non exposés et non infectés au VIH; ainsi que son association avec l'ESVIH contribuerait à mieux comprendre le phénomène de l'AIC chez les CHSD.

L'AIC pourrait aussi dépendre de l'immunité non spécifique. Il a été récemment montré que l'immunité due à l'effet non spécifique d'un agent pathogène persiste chez l'homme et peut conférer une protection solide et innée (Netea et al., 2011). A ce titre, il a été suggéré que la vaccination contre la variole (VCV) pourrait procurer une telle protection, entre autres contre la progression de l'infection à VIH. Un lien entre la VCV et l'infection à VIH a été évoqué depuis le début de l'épidémie du VIH (Siefkes, 1993; Weinstein et al., 2004). La variole a été déclarée éradiquée par l'OMS en 1980. Cependant, le risque de réémergence est réel en raison du développement des techniques de biologie synthétique et de la menace bioterroriste (The Independent Advisory Group on Public Health Implications of Synthetic Biology Technology Related to Smallpox, 2015). De ce fait, l'OMS a décidé de conserver les stocks de virus varioliques à des fins de recherches. Des vaccins efficaces et mieux tolérés, même chez les PVVIH, sont développés ou sont en développement (Greenberg et al., 2013; WHO Advisory Committee on Variola Virus Research, 2016). Des études ont déjà rapporté l'effet protecteur de la VCV sur le système immunitaire des populations africaines (Aaby et al., 2006; Jensen et al., 2006) alors que d'autres ont montré que l'immunité cellulaire et humorale de la VCV pouvait persister pendant des décennies (Crotty et al., 2003; Demkowicz et al., 1996; Taub et al., 2008). L'Afrique subsaharienne a été la dernière région OMS à éradiquer la variole. Plus particulièrement au Sénégal, la VCV a été arrêtée en 1980 : année où la variole a été déclarée éradiquée. Il s'agit donc d'un contexte où les niveaux d'AIC seraient élevés et où on retrouve l'une des populations dont l'exposition à la VCV est la plus récente. Cela offre une excellente opportunité pour évaluer sur le plan épidémiologique la relation entre la VCV et l'AIC.

Cette thèse par article comprend 6 chapitres. Suite à l'introduction, le chapitre 1 présente la revue de la littérature, le chapitre 2 présente les objectifs et questions de recherche, le chapitre 3 décrit les méthodes, le chapitre 4 présente les résultats, le chapitre 5 présente une discussion détaillée des résultats et le chapitre 6 présente la conclusion.

1. État des connaissances

1.1. Le point sur l'épidémie de l'infection à VIH

Depuis 1981 et le début de l'épidémie du VIH, l'ONUSIDA estime que 76,1 millions de personnes ont été infectées par le VIH parmi lesquelles 35 millions ont perdu la vie des suites de maladies liées au VIH/sida (UNAIDS, 2017a). Il faut cependant distinguer une période charnière dans l'histoire de l'infection à VIH autour des premiers essais cliniques sur les anti-protéases ayant démarré en 1994 et la confirmation de leur efficacité en combinaison avec les inhibiteurs de la transcriptase inverse dès 1996. L'avènement de la thérapie antirétrovirale hautement active (TARV) permet d'identifier un « avant » et un « après » avec un réel changement de paradigme. Le TARV transforme une maladie avec une issue fatale en condition chronique et le plus souvent asymptomatique. Les antirétroviraux ont contribué à inverser la courbe d'incidence et de mortalité des PVVIH. D'autres stratégies telles que la prévention et le traitement des affections opportunistes et des comorbidités non classant sida ont été mises en œuvre et ont contribué à faire de l'infection à VIH une maladie chronique associée à une espérance de vie de plus en plus proche de celle de la population générale (Asiki et al., 2016; Costagliola, 2014; Guaraldi et al., 2014; Lima et al., 2015; Sabin, 2013; Samji et al., 2013; Siddiqi et al., 2016).

L'ONUSIDA estimait qu'en 2016, 36,7 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde. Le nombre de personnes nouvellement infectées par le VIH en 2016 était de 1,8 million et le nombre de personnes décédées de causes liées au VIH/sida était de 1 million. Ces chiffres étaient de 3,4 millions en 2001 et 1,9 million en 2005, respectivement (UNAIDS, 2017b) (Figure 1). Cette réduction de l'incidence et de la mortalité peut avoir plusieurs explications. D'une part, la dynamique de la transmission notamment dans les pays ayant une épidémie généralisée avec des prévalences élevées où l'atteinte du point d'équilibre va engendrer une réduction du nombre d'infections même en l'absence d'interventions efficaces. D'autre part, les énormes progrès réalisés dans le cadre de la lutte contre le VIH qui sont en grande partie attribués au TARV qui, en plus d'un bénéfice clinique, a un bénéfice préventif très important. D'autres interventions ont contribué à ces résultats : elles peuvent être

regroupées dans deux entités distinctes : 1) les interventions structurelles (les politiques de réduction des risques, l'amélioration des performances des tests diagnostiques qui permet un dépistage de plus en plus précoce de l'infection, le dépistage et le traitement des infections sexuellement transmissibles (IST), la prise en charge des affections opportunistes et des comorbidités non classant sida, la création d'un environnement favorable pour les personnes infectées et affectées par le VIH) et comportementales (l'information-éducation-communication (IEC), l'utilisation des préservatifs, la circoncision masculine), 2) les interventions basées sur les ARV, soit la prévention de la transmission mère-enfant (PTME), la prophylaxie préexposition (PrEP), la prophylaxie post exposition (PPE) et les microbicides. Il faut tout de même noter que les deux moyens les plus radicaux pour le contrôle de toute pathologie infectieuse ne font pas partie de ces stratégies, soit un traitement curatif (qui détruit l'agent pathogène ou son pouvoir pathogène) ou un vaccin efficace (qui prévient de l'infection ; sinon de la maladie). Ce sont les deux gros écueils de la lutte contre le VIH qui pourraient permettre d'envisager pas juste l'élimination de la transmission, mais l'éradication tout court. De nombreuses recherches sont en cours pour trouver une cure fonctionnelle ou un vaccin efficace contre le VIH. On travaille aussi sur des thérapies alternatives notamment à destination de l'AIC et de l'inflammation (Cohen et Frahm, 2017; Mann et al., 2016; Nixon et al., 2017; O'Brien et al., 2017; Rose et al., 2017; Rossouw et al., 2017; Safrit et al., 2016; Schwartz et al., 2017).

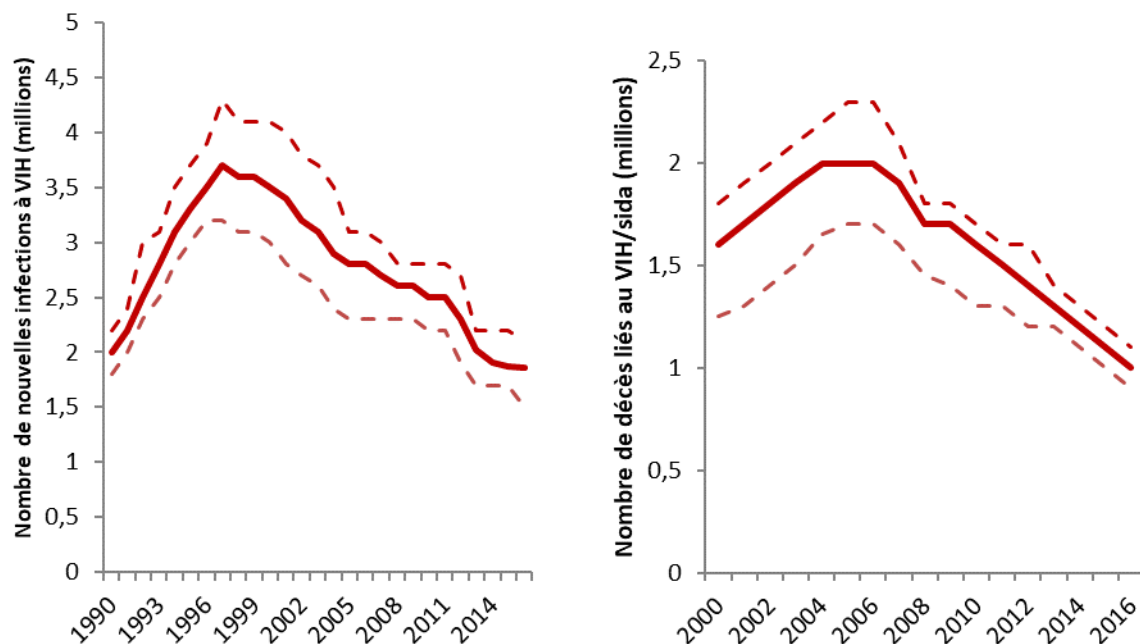


Figure 1. Évolution de l'incidence et de la mortalité liée au VIH dans le monde. Adapté d'après (UNAIDS, 2017b).

L'ONUSIDA a émis en 2014 l'objectif de mettre fin à l'épidémie du VIH à l'horizon 2030. Les objectifs ciblés sont les « 90 -90 -90 » en 2020 et les « 95⁴ -95⁵ -95⁶ » en 2030. Pour ce faire, chaque pays devrait atteindre son « tipping point » : ce « tipping point » est atteint lorsque le nombre de personnes initiant le TARV est supérieur au nombre de nouvelles infections sur la même année. Un « tipping point ratio » (nombre annuel de nouvelles infections/nombre annuel de personnes initiant le TARV) qui demeure inférieur à 1 est un élément crucial pour atteindre les objectifs de l'ONUSIDA (AmfAR et AVAC, 2013; Bass et al., 2012). Le bilan d'étape de 2017 montre des résultats globalement encourageants : 70% des PVVIH connaissent leur statut, 77% d'entre elles sont sous TARV et parmi elles, 82% ont une charge virale (CV) plasmatique indétectable. Ces résultats révèlent des disparités

⁴ 95% des personnes vivant avec le VIH connaissent leur statut sérologique VIH

⁵ 95% des personnes connaissant leur statut reçoivent un traitement antirétroviral

⁶ 95% des personnes sous traitement antirétroviral ont une charge virale indétectable

géographiques importantes et l'ONUSIDA estime que l'Europe Centrale et Occidentale ainsi que l'Amérique du Nord atteindront les « trois 90 » en 2020. L'Amérique Latine atteindra les « trois 90 » si les progrès enregistrés ces dernières années restent soutenus. Il en est de même de l'Afrique Australe et Orientale qui est la partie du monde la plus touchée par l'infection à VIH. Les Caraïbes, l'Asie et le Pacifique sont dans la bonne voie sur certains indicateurs, mais en net retard sur d'autres. L'ONUSIDA précise que « les autres régions du monde sont en danger de rater les « 90-90-90 » à l'horizon 2020 ». Parmi les régions dites en danger, il y a l'Afrique de l'Ouest et du Centre où vivaient 6,1 millions de PVVIH en 2016, année où y étaient survenus 370000 nouvelles infections et 310000 décès. Les niveaux des trois indicateurs sont à 43%, 83% et 73% (Figure 2). Au Sénégal, en 2015, ces indicateurs étaient à 57%, 51% et 13,5% alors qu'en 2016, des niveaux de 52% et 77% ont été rapportés pour les 2^e et 3^e « 90 », respectivement. En Gambie, les niveaux des 1^e et 2^e « 90 » étaient à 35% et 86%, respectivement (République du Sénégal, 2016; UNAIDS, 2017b). A l'intérieur de ces pays, certains groupes de populations sont particulièrement touchés et jouent un rôle central dans l'épidémiologie de l'infection à VIH. Ces groupes appelés populations clés sont les HSH, les UDI, les transgenres, les personnes privées de liberté (PPL) et les PS chez qui la prévalence de l'infection à VIH est nettement supérieure à celle de la population générale (OMS, 2015). La problématique de ces populations clés est d'autant plus préoccupante que le contexte social et légal est extrêmement répressif. Il faut aussi noter la proportion relativement importante de nouvelles infections qui surviennent chez les jeunes surtout de sexe féminin ainsi que les très faibles niveaux des « 90-90-90 » chez les jeunes surtout de sexe masculin (UNAIDS, 2017a).

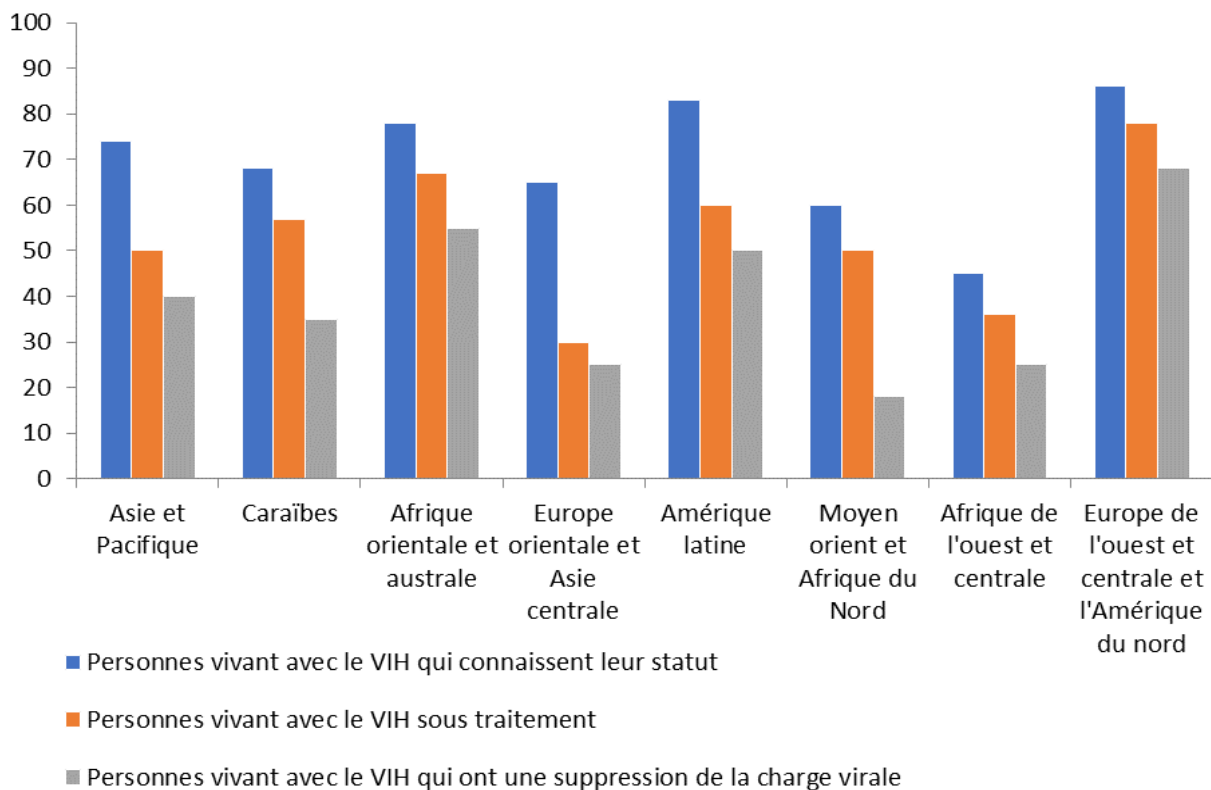


Figure 2. Évolution du niveau des « 90-90-90 » dans les différentes régions OMS en juin 2017. Adapté d'après (UNAIDS, 2017b).

1.2. La mortalité et ses déterminants au cours de l'infection à VIH

1.2.1. Mortalité et niveau de CD4

Dans les pays riches, des études de cohortes incluant plusieurs milliers de personnes ont permis d'évaluer la mortalité et la morbidité chez les PVVIH naïves de TARV selon le niveau de CD4. Ces données issues des cohortes collaboratives notamment le « HIV Cohort Collaboration », « UK Collaborative HIV Cohort » (CHIC), EuroSIDA et « Concerted Action on SeroConversion to AIDS and Death in Europe » (CASCADE) ont permis d'établir les taux de mortalité dans des populations nord-américaines, européennes et australiennes naïves de TARV avec différents niveaux de CD4 (Mocroft et al., 2000; Mocroft et al., 2003; Phillips et

al., 2004; Phillips et al., 2007; Smit et al., 2006; Study Group on Death Rates at High CD4 Count in Antiretroviral Naïve Patients, 2010).

Ces données sont rares en Afrique subsaharienne : les seules études associées à un niveau de preuve satisfaisant sont des études de cohortes réalisées en Afrique du Sud, au Burkina Faso, en Côte d'Ivoire, en Ouganda et au Zimbabwe. En Afrique du Sud, une étude rapporte une incidence d'infections opportunistes d'autant plus importante que le niveau de CD4 était bas (Holmes et al., 2006). De façon similaire, une autre étude portant sur 1399 PVVIH de la Cap Town AIDS Cohort (CTAC) suivies pendant 16,6 mois a montré des taux de mortalité plus élevés avec des niveaux de CD4 inférieurs (Badri et al., Lancet 2006). Ces auteurs ont montré qu'aux stades 1 et 2 de la classification de l'OMS (annexe 3), les taux de mortalité étaient de: 7/100 personnes-années (PA) (intervalle de confiance à 95% (IC 95%) : 0,03 – 0,15), 6/100 PA (IC 95% : 0,03 – 0,11) et 2/100 PA (IC 95% : 0,01 – 0,05) dans les strates de CD4 « < 200 », « 200-350 » et « > 350 », respectivement. Au stade 3, ces taux étaient de 21/100 PA (IC 95% : 0,16 – 0,28), 9/100 PA (IC 95% : 0,04 – 0,16) et 10/100 PA (IC 95% : 0,05 – 0,19) dans les strates respectives et au stade 4, de 50/100 PA (IC 95% : 0,39 – 0,63), 22/100 PA (IC 95% : 0,07 – 0,51) et 30/100 PA (IC 95% : 0,08 – 0,79), respectivement. Au Zimbabwe, chez les femmes infectées par le VIH recrutées après accouchement, les taux de mortalité (par 1000 PA) étaient de 144,2, 29,3, 12,5, 14,6, 10,0 and 5,8 dans les strates : < 200, 200-399, 400-599, 600-799, 800-999 and $\geq 1000/\mu\text{L}$, respectivement (Hargrove et al., 2010).

En Afrique Subsaharienne, trois études observationnelles se sont spécifiquement intéressées à la mortalité chez les PVVIH naïves de TARV avec un niveau de CD4 entre 350 et $499/\mu\text{L}$ en comparaison avec un niveau de CD4 $\geq 500/\mu\text{L}$ (Anglaret et al., 2012; Lewden et al., 2012; Masiira et al., 2014). Une publication sur 374 PVVIH en Ouganda a rapporté des taux de mortalité de 27,1/1000 PA dans la strate de CD4 « 350-499 » et 17/1000 PA dans la strate « ≥ 500 »; adjusted Hazard ratio (aHR) = 1,22; p-value = 0,65. (Masiira et al., 2014). Les données de deux cohortes ivoiriennes ont été analysées pour évaluer l'incidence des événements cliniques importants (décès ou événement classant sida ou événement majeur non classant sida) chez 860 PVVIH suivies pendant une durée moyenne de 35,9 mois. Les taux de mortalité étaient de 1,6/100 PA (IC 95% : 0,8 – 3,0) entre 350 et 499 CD4/ μL ; 0,6/100 PA (IC 95% :

0,1 – 2,0) entre 500 et 649 CD4/ μ L et 0,3/100 PA (IC 95% : 0,0 – 1,6) pour la strate de CD4 \geq 650/ μ L (Anglaret X al., 2012). Finalement, une analyse des données issues de 2588 adultes suivis sans ARV (médiane = 1,9 an) en Afrique de l’Ouest a rapporté des taux de mortalité de 1,5/100 PA (IC 95% : 0,9 – 2,2), 0,4/100 PA (IC 95% : 0,1 – 0,9) et 0,2/100 PA (IC 95% : 0,0 – 0,5) dans les strates de CD4 « 351-500 », « 501-650 » et « > 650 », respectivement (Lewden et al., 2012). Dans ces trois études, le taux de mortalité augmentait avec le déficit immunitaire, mais la différence n’a été statistiquement significative entre les strates de CD4 « 350-499 » et « ≥ 500 » que dans une seule. L’interprétation de ces différences nécessite une certaine prudence en raison du faible nombre d’événements survenus dans les strates d’intérêt et du faible nombre de PA en rapport avec de faibles effectifs et/ou de courtes durées de suivi.

Plusieurs études observationnelles prises en compte dans la revue d’Anglemyer et al. (2014) ont également examiné la mortalité des PVVIH en fonction du niveau de CD4 (entre 350 et 500 et au-dessus de 500) à la mise sous TARV avec des résultats discordants : quatre études n’avaient pas trouvé de différence, une avait retrouvé une différence statistique, mais cliniquement non significative et deux autres avaient trouvé une différence statistiquement et cliniquement significative. Une revue systématique ayant porté sur 24 études dont trois ECR ne retrouvait pas de bénéfice clinique évident à démarrer le TARV au-dessus de 500 CD4/ μ L, mais était plutôt favorable à l’initiation du TARV à 350-500 CD4/ μ L (Anglemyer et al., 2014). Elle a fortement pesé sur les directives de l’OMS pour l’initiation du TARV publiées en 2013 (WHO, 2013). Des modélisations ne sont pas parvenues non plus à déterminer le meilleur moment pour l’initiation du TARV (Ewings et al., 2014). Par ailleurs, une étude récente sur 50174 PVVIH de la cohorte nationale du Rwanda a comparé la mortalité sous TARV selon le niveau de CD4 à l’initiation du traitement et n’a pas montré de différence significative entre les différentes strates. Par rapport à la strate de CD4 « 200-349 », le HR était de 0,8 (IC 95% : 0,43 – 1,47) et 0,82 (IC 95% : 0,32 – 2,33) pour les strates de CD4 « 350-499 » et « ≥ 500 », respectivement (Nsanziimana et al., 2015). En plus de résultats discordants, les études observationnelles ne permettaient pas d’établir une norme consensuelle en raison de leurs limites : la non prise en compte des événements non classant sida, la possibilité de confusion résiduelle et le « *lead time bias* » ou « biais de délai au diagnostic » pour les études qui ne prenaient pas en compte la période pré-TARV. En effet, le « biais de délai au diagnostic » peut

survenir en ne considérant les patients dans les strates de CD4 inférieurs qu'à partir de la date de mise sous TARV. Par exemple, en comparant la mortalité selon la strate de CD4 (200 – 349 contre 350 – 500) à l'initiation du TARV, on ne prend pas en compte la période où le niveau de CD4 passe de 500 à 350 dans la strate 200 – 349. Les sujets qui sont décédés hors suivi alors que leur niveau de CD4 se situait entre 500 et 350 ne peuvent pas non plus être pris en compte adéquatement. La non-prise en compte de ces personnes-temps peut entraîner une surestimation de l'effet de la mise sous TARV à un niveau de CD4 plus élevé (Cascade Collaboration Project, 2000; Cole et al., 2004; Cole et al., 2007; Sabin, 2009; Wada et al., 2014).

Trois ECR ont aussi évalué l'initiation précoce du TARV globalement à un niveau de CD4 ≥ 500 comparativement à une initiation différée du TARV lorsque le niveau de CD4 devenait < 500 voire $< 350/\mu\text{L}$ ou sur la base des critères OMS. L'essai clinique randomisé multipays HPTN 052 (Botswana, Brésil, Inde, Kenya, Malawi, Afrique du Sud, Thaïlande, États-Unis d'Amérique et Zimbabwe) avait porté sur 1763 PVVIH issues de couples sérodiscordants dont 886 randomisés dans le bras « traitement précoce » et 877 dans le groupe « traitement différé ». Après une durée de suivi médiane de 2,1 ans, le risque relatif (RR) d'événements cliniques (événement classant stade 4 de l'OMS, tuberculose, infection bactérienne grave, événement grave non classant sida) était de 0,73 (IC 95% : 0,52 – 1,03; $p = 0,074$) dans le bras « traitement précoce » par rapport au bras « traitement différé » (niveaux médians de CD4 à la mise sous TARV = $442/\mu\text{L}$ et $230/\mu\text{L}$, respectivement) (Grinsztejn et al., 2014).

L'essai START a concerné 4685 patients recrutés entre 2009 et 2013 au niveau de 215 sites de 35 pays différents. Les PVVIH étaient naïves de TARV et avaient un niveau de CD4 > 500 cellules/ μL à leur recrutement. Ils étaient randomisés dans deux bras parallèles : un bras « traitement précoce » qui démarrait immédiatement le TARV et un bras « traitement différé » qui ne démarrait la TARV que quand le niveau de CD4 atteignait 350 cellules/ μL , quand il y avait survenue d'un événement classant sida ou indiquant la progression du VIH ou en cas d'autre indication du TARV. Le critère de jugement principal était composite et regroupait le décès, la survenue d'un événement classant sida ou d'un événement grave non classant sida. Un total de 2326 patients a été randomisé dans le groupe « traitement immédiat » et 2359 dans

le groupe « traitement différé ». A la date du 26 mai 2015, le RR de survenue du critère de jugement principal était de 0,43 (IC 95% : 0,30 - 0,62; $p < 0.001$). Les risques relatifs de survenue d'un événement classant sida, d'un événement grave non classant sida et de décès étaient de 0,28 (IC 95% : 0,15 – 0,50; $p < 0.001$), 0,61 (IC 95% : 0,38 – 0,97; $p = 0.04$) et 0,58 (IC 95% : 0,28 – 1,17; $p = 0.13$), respectivement (Babiker et al., 2013; INSIGHT START Study Group, 2015).

L'essai ANRS 12136 TEMPRANO a recruté, entre 2008 et 2012, 2056 patients qui ne présentaient pas de critère de mise sous TARV selon les recommandations de l'OMS de 2013 (WHO, 2013). Ils ont été randomisés dans quatre groupes parallèles : « traitement immédiat », « traitement immédiat + prophylaxie à l'isoniazide », « traitement différé⁷ », « traitement différé + prophylaxie à l'isoniazide ». Le critère de jugement principal était composite et comprenait : décès toutes causes confondues, événement classant sida, cancer non classant sida ou maladie bactérienne invasive non classant sida. Après 4754 personnes-années (PA) de suivi, le risque de survenue du critère de jugement principal était de 2,8/100 PA (IC 95% : 2,1 - 3,5) lorsque le niveau de CD4 était > 500 cellules/ μ L, 4,1/100 PA (IC 95% : 3,5 - 5,1) entre 350 et 500 CD4/ μ L et 6,8/100 PA (IC 95% : 5,0 - 8,6) lorsque le niveau de CD4 était < 350 cellules/ μ L (TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, 2015).

En somme, l'étude de la mortalité durant la phase pré-TARV peut contribuer à informer les décisions de santé publique (SP) notamment le meilleur moment pour l'initiation du TARV chez les PVVIH avec un niveau de CD4 $\geq 350/\mu$ L. Les lignes directrices de l'OMS de 2013 recommandaient la mise sous TARV lorsque le niveau de CD4 devenait $\leq 500/\mu$ L, en cas de manifestations cliniques indiquant une progression de la maladie; de même que dans des groupes et circonstances particuliers (WHO, 2013). Elles ont été adaptées dans les PRL et y restent en vigueur dans beaucoup d'entre eux bien que l'OMS ait récemment publié de nouvelles recommandations élargissant l'initiation du TARV à toutes les PVVIH quel que soit le stade clinique et le niveau de CD4, motivées par un éventuel bénéfice de santé publique en diminuant la transmission (WHO, 2016). Ces dernières font toujours l'objet de discussions dans ces pays quant à leur faisabilité, leur efficacité et leur pertinence, car elles ont été

⁷ Traitement ARV initié selon les recommandations OMS de 2013

essentiellement dictées par les résultats d'ECR dont les conditions de réalisation sont très différentes des conditions réelles en PRL. D'autres éléments contribuent à alimenter la discussion. Plusieurs arguments sont en faveur des recommandations de 2013 en raison de :

- l'absence de bénéfice clinique évident à démarrer le TARV au-delà de 500 CD4/ μ L. Les raisons qui expliquent ce manque de données probantes sont les suivantes :
 - les événements cliniques (classant et non classant sida) sont rares avec un niveau de CD4 > 500/ μ L
 - dans HPTN 052, le risque de décès et le risque de survenue d'événement non classant sida n'étaient pas différents dans le bras « traitement immédiat » par rapport au bras « traitement différé » : HR = 0,73 (IC 95% : 0,34 – 1,59; p = 0,43) et HR = 1,35 (IC 95% : 0,57 – 3,19; p = 0,50) (Grinsztejn et al., 2014)
 - la différence de mortalité n'était pas statistiquement significative chez les sujets débutant le TARV avec \geq 500 CD4/ μ L par rapport à ceux qui l'initiaient avec 350-499 CD4/ μ L dans HIV-CAUSAL Collaboration : HR = 1,01 (IC 95% : 0,81 – 1,22), dans HIV Outpatient Study (HOPS) : HR = 1,20 (IC 95% : 0,17 – 8,53; p > 0,2), dans CASCADE : HR = 1,02 (IC 95% : 0,49 – 2,12) et dans le « When to Start Consortium » : HR = 0,99 (IC 95% : 0,16 – 1,29) (HIV-CAUSAL Collaboration, 2011; Palella et al., 2003; When To Start Consortium, 2009; Writing Committee for the CASCADE Collaboration, 2011). La revue commanditée par l'OMS pour établir ces lignes directrices de 2013 recommandait l'initiation du TARV entre 350 et 500 cellules/ μ L et non au-delà (Anglemyer et al., 2014). La mortalité n'était pas non plus différente dans le bras « traitement immédiat » par rapport au bras « traitement différé » dans START (HR = 0,58; IC 95% : 0,28 – 1,17; p = 0,13) et dans TEMPRANO (HR = 0,80; IC 95% : 0,45 – 1,80) (INSIGHT START Study Group, 2015; TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, 2015).
- l'impossibilité d'une éradication virale ou d'une guérison chez la personne infectée avec les ARV actuels
- le fait que le TARV soit un traitement à vie avec des enjeux d'observance, de résistances favorisées par une observance insuffisante, d'effets secondaires à long terme et de coûts.

Les ARV ont un coût élevé multiplié dans la durée car il s'agit d'un traitement à vie. Ces coûts sont d'autant plus préoccupants pour les PRL. Les coûts annexes en termes de prestataires de service, d'outils de suivi, d'infrastructures sanitaires supplémentaires ainsi que leurs répercussions sur un système de santé aux ressources insuffisantes peuvent être importants et doivent être pris en compte (Bigna et al., 2016; Corrao et al., 2016; Éholié et al., 2016). Les financements disponibles pour la lutte contre le VIH pour les PRL stagnent voire diminuent depuis 2013 et les projections confirment une lacune importante pour l'atteinte des objectifs de l'ONUSIDA (Figure 3) (UNAIDS, 2017a).

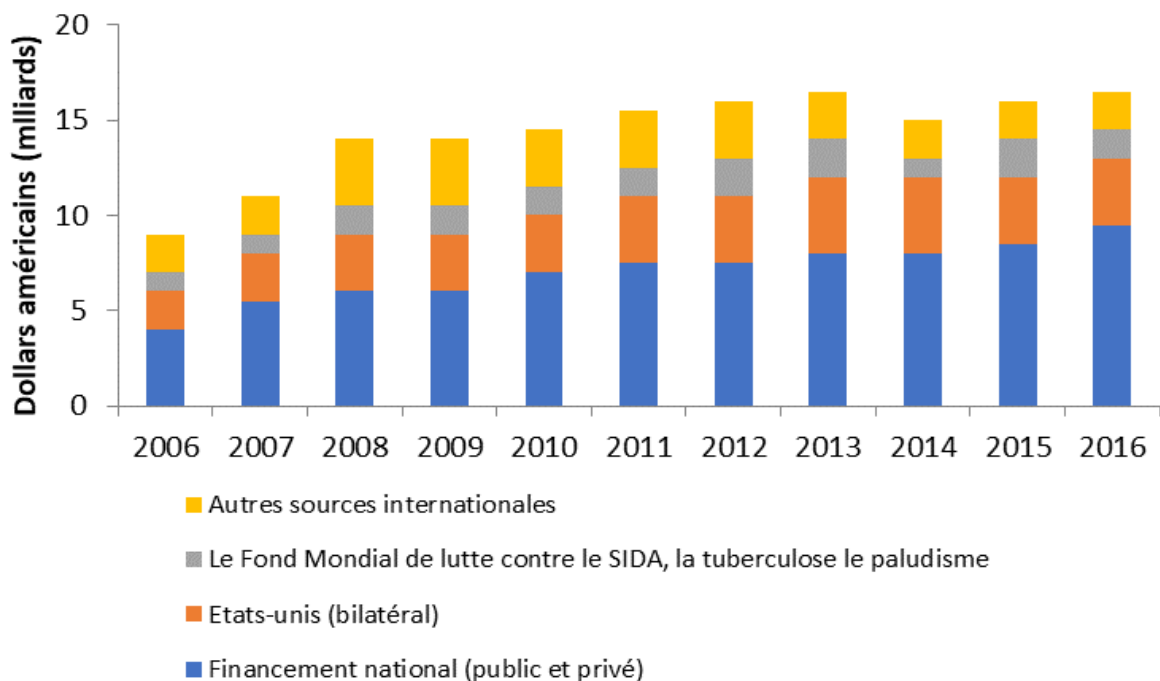


Figure 3. Niveau des financements disponibles pour la lutte contre le VIH pour les PRL et intermédiaires selon la source. Adapté d'après (UNAIDS, 2017a).

Il existe cependant des arguments qui appuient les recommandations de traitement universel de 2016. Ces arguments sont les suivants :

- la réduction éventuelle du risque de transmission du VIH. En effet, le TARV est très efficace en termes de suppression virale avec des niveaux d'acide ribonucléique (ARN) du VIH très faibles dans le sang et les sécrétions génitales qui sont les principales voies de transmission du VIH (Baeten et al., 2012; Cohen et al., 2016; Lasry et al., 2014; Rodger et al., 2016).

- la réduction potentielle de la mortalité : les investigateurs du North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design (NA-ACCORD) ont trouvé un risque de décès augmenté de 94% lorsque le TARV était débuté entre 351 et 500/ μ L par rapport à un niveau de CD4 > 500/ μ L (RR = 1,94; IC_{95%} = 1,37 – 2,79) (Kitahata et al., 2009). Il en était de même dans une analyse regroupant les données de cohortes européennes et nord-américaines (RR = 1,30; p = 0,0023) (Study Group on Death Rates at High CD4 Count in Antiretroviral Naïve Patients, 2010) et une récente analyse du HIV-CAUSAL Collaboration, bien que la différence était minime (RR = 1,02; IC_{95%} = 1,01 – 1,02) (Lodi S et al., 2015).
- la réduction de la morbidité en rapport avec les événements non classant sida (cardiovasculaire, rénale, hépatique et cancéreuse) mais aussi de la morbidité liée au sida notamment dans TEMPRANO et START bien que ce bénéfice clinique ait été jugé minime à modéré (Brenchley et al., 2006; INSIGHT START Study Group, 2015; Phillips et al., 2008; SMART Study Group, 2008; TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, 2015).
- la satisfaction des revendications de certains groupes de PVVIH en faveur d'une inclusion plus précoce. Ces revendications sont par ailleurs motivées par le souhait des personnes séropositives de protéger leurs partenaires, ou même de ne pas être contraintes au dévoilement systématique du diagnostic à leurs partenaires, ainsi que par les craintes liées à la criminalisation de la personne séropositive dans un rapport sans préservatif.

En résumé, l'étude idéale pour déterminer le meilleur moment de l'initiation du TARV serait un ECR sur une population de PVVIH incluses au début de leur infection et suivies pendant une durée suffisamment longue qui permette la survenue de tous les effets secondaires possibles des TARV. Le niveau de CD4 semble le meilleur marqueur de l'état d'immunodéficience humaine. D'autres marqueurs de l'AIC et la charge virale pourraient être utilisés mais se pose le problème de leur accessibilité technique et financière. En utilisant le niveau de CD4, on pourrait imaginer un devis dans lequel les « seroconverters » seraient inclus et mis sous TARV à différents niveaux de CD4 (par paliers de 50/ μ L par exemple). La survenue d'événements morbides (avec et sans rapport avec les ARV) serait le critère de jugement. Le meilleur moment serait le moment qui permette d'avoir le meilleur ratio bénéfices/risques (les bénéfices escomptés justifient les risques encourus). En termes

d'efficience, l'OMS considère une intervention sanitaire comme étant coût-efficace si le coût par année de vie en bonne santé est inférieur à 3 x le PIB par habitant du pays; et très efficace s'il est inférieur au PIB par habitant du pays. Une telle étude n'est pas faisable pour plusieurs raisons (éthiques, techniques, financières). Ainsi, des modélisations mathématiques pourraient également être intéressantes mais celles qui ont été réalisées n'y sont pas parvenues. Les ECR HPTN 052, START et TEMPRANO se rapprochent du meilleur devis faisable et permettent d'évaluer l'efficacité d'une mise sous TARV précoce dans des conditions idéales. Nous pensons qu'il y a un gap important entre le contexte de ces ECR et les contextes d'application des recommandations issues des ECR dans les PRL (systèmes de santé). L'efficacité retrouvée dans les ECR est forcément diluée dans les systèmes de santé. Les études pragmatiques permettraient de voir une efficacité similaire sinon très proche de celle attendue dans les systèmes de santé (après les essais cliniques).

En étudiant la mortalité selon le niveau de CD4 dans une cohorte ouest africaine suivie pendant 18 ans, notre étude permettra d'avoir une idée plus précise des différences à long terme dans les PRL et d'alimenter les discussions sur la meilleure stratégie d'intervention.

1.2.2. Mortalité et sérotype viral

En plus du VIH-1, un autre virus : le VIH-2 peut causer le sida. Le VIH-2 présente des similarités par rapport au VIH-1 en partageant les mêmes mécanismes de réplication, les mêmes modes de transmission et la même expression clinique notamment l'évolution vers le sida. L'infection par le VIH-2 présente cependant un potentiel évolutif moins important avec des charges virales plasmatiques plus basses, une baisse du niveau de CD4 plus lente et une progression clinique également plus lente que celle de l'infection par le VIH-1 (Alabi et al., 2003; Andersson al., 2000; Azevedo-Pereira et Santos-Costa, 2016; Berry et al., 1998; Drylewicz et al., 2008; Jaffar et al., 2004; Kanki et al, 1994; MacNeil et al., 2007; Marlink et al, 1994). Ces différences évolutives font que la majorité des personnes infectées par le VIH-2 sont des non progresseurs à long terme⁸ voire des « elite controllers⁹ » ou « natural

⁸ Personnes vivant avec le VIH qui, en l'absence de traitement ARV, conservent un niveau de CD4 > 500/ μ L et une charge virale plasmatique < 5000 copies/mL sur une durée de 5 à 10 ans.

controllers ». En effet, plus de 75% des PVVIH-2 sont des non-progresseurs à long terme alors que moins de 25% progressent vers le sida en l'absence de traitement (De Silva et al., 2008; Lambotte et al., 2005; Schim van der Loeff et al., 2010). La proportion de non progresseurs à long terme est < 5% chez les PVVIH-1 (Kumar P, 2013). Il a même été rapporté que les PVVIH-2 ayant une charge virale indétectable auraient une survie qui n'est pas différente de celle de la population générale (Berry et al., 2002; Schim van der Loeff et al., 2010). Par ailleurs, bien que l'infection par le VIH-2 puisse causer le sida, les PVVIH-2 à ce stade de la maladie ont des charges virales plus basses en comparaison avec les PVVIH-1 au même stade de sida (Schim van der Loeff et al., 2010). Le VIH-2 est par conséquent moins transmissible que le VIH-1 et est endémique seulement en Afrique occidentale où la coinfection par le VIH-1 et le VIH-2 est relativement fréquente (Ekouevi et al., 2013; De Silva et al., 2010; Gottlieb et al., 2008).

Plusieurs études ont comparé la mortalité de l'infection par le VIH-1, de l'infection par le VIH-2 et de la coinfection VIH-1 + VIH-2. Ces études s'entendent pour dire que la mortalité est plus élevée chez ceux infectés par le VIH-1 ou coinfectés par le VIH-1 et le VIH-2 (Prince et al., 2014; Tchounga et al., 2016; Whittle et al., 1994). Par exemple, l'étude réalisée en Gambie sur 175 PVVIH-1 et 294 PVVIH-2 avec des durées de suivi médianes respectives de 5,2 mois et 9,4 mois a montré un aHR de 0,64 (IC 95% : 0,43– 0,94) en comparant la mortalité des PVVIH-2 avec celle des PVVIH-1 après ajustement sur l'âge, le sexe et le niveau de CD4 (Whittle et al., 1994). Une autre analyse des données comparant 746 PVVIH-1 suivies pendant une durée médiane de 1,82 ans, 666 PVVIH-2 suivies pendant une durée médiane de 3,15 ans et 107 individus coinfectés suivis pendant une durée médiane de 1,53 an, confirmait les résultats précédents avec des taux de mortalité similaires entre PVVIH-1 et coinfectés (Schim van der Loeff et al., 2002). Cependant, chez les PVVIH qui avaient un niveau de ≥ 500 CD4/ μ L, le aHR était de 0,76 (IC 95% : 0,65 – 0,88) après ajustement sur l'âge, le sexe et le stade clinique CDC alors qu'il n'y avait pas de différence significative de mortalité entre le VIH-1 et le VIH-2 dans les strates de CD4 « < 200 » et « 200-499 ». Ces

⁹ Personnes vivant avec le VIH qui, en l'absence de traitement ARV, conservent un niveau de CD4 > 500/ μ L et une charge virale plasmatique < 50 copies/mL sur une durée de 5 à 10 ans

résultats faisaient émettre l'hypothèse que la différence de mortalité observée entre les PVVIH-1 et les PVVIH-2 était attribuable à la différence du niveau de CD4 (Schim van der Loeff et al., 2002). Cette hypothèse a été appuyée par les résultats de Togun T et al. (2011) qui n'avaient pas retrouvé de différence significative de mortalité après ajustement sur le niveau de CD4. Ils ont rapporté un HR (ajusté sur le niveau de CD4) de 0,73 (IC 95% : 0,42 – 1,26) pour 103 PVVIH-2 et un HR de 1,07 (IC 95% : 0,49 – 2,31) pour 39 individus coinfectés par rapport à 647 PVVIH-1. Dans ces trois études, il pouvait subsister de la confusion résiduelle en l'absence d'ajustement sur la charge virale. Une autre étude ayant inclus 119 PVVIH-1, 137 PVVIH-2 et 82 coinfectés confirmait les résultats précédents. Elle montrait par ailleurs une charge virale moins élevée chez les PVVIH-2. Le niveau de CD4 était le seul facteur de risque indépendant de décès, quel que soit le sérotype viral; la charge virale n'étant un facteur de risque que chez les PVVIH-2 (Alabi et al., 2003). Sur une population exclusivement féminine comportant 101 PVVIH-1 et 243 PVVIH-2, les taux de mortalité étaient de 56/1000 PA (IC 95% : 39 – 79) et 16/1000 PA (IC 95% : 10 – 23); $p < 0,001$, respectivement. Le niveau de CD4 et la charge virale sont apparus comme facteurs de risque indépendants de décès (Hansmann et al., 2005). Dans l'étude de Tienen et al. (2011), des HR respectifs de 2,6 (IC 95% : 2,1 – 3,2), de 7,3 (IC 95% : 5,3 – 10,0) et de 6,6 (IC 95% : 4,4 – 9,0) pour le VIH-1, le VIH-2 et la coinfection VIH-1 + VIH-2 ont été estimés, en comparaison avec la population générale.

Du fait de son rôle épidémiologique limité, l'infection par le VIH-2 n'a pas fait l'objet du même intérêt que l'infection par le VIH-1. Ceci est encore plus vrai pour la coinfection VIH-1 + VIH-2 pour laquelle subsistent plusieurs zones d'ombre. Par exemple, il existe un débat vif sur la dynamique d'interaction entre le VIH-1 et le VIH-2. Un possible effet protecteur du VIH-2 contre l'infection par le VIH-1 a été rapporté pour la première fois en 1995 chez des travailleuses du sexe sénégalaises. Une cohorte de 756 PS (138 PVVIH-2 et 618 séronégatives) a été suivie de 1985 à 1994 : les taux d'incidence du VIH-1 chez les PVVIH-2 et les séronégatives étaient de 1,06/100 PA (IC 95% : 0,21 – 2,22) et 2,53 (IC 95% : 1,97 – 3,25). Le HR d'infection par le VIH-1 des PVVIH-2 par rapport aux séronégatives était de 0,32; $p = 0,008$ (Travers et al., 1995). Plusieurs études conduites en Guinée Bissau et en Côte d'Ivoire ont par la suite réfuté cette observation (Aaby et al., 1997; Norrgren et al., 1997;

Schimm van der Loeff et al., 2001; Wiktor et al., 1999) et ont été appuyées par une revue de la littérature (Greenberg, 2001). Plus récemment, une autre étude réalisée sur 233 policiers guinéens a rapporté une durée de progression vers le sida plus longue lorsque les PVVIH-1 étaient coinfectées par le VIH-2. Chez les coinfectés, cette durée était de 104 mois (IC 95% : 75 – 133) contre 68 mois (IC 95% : 60 – 76; $p = 0.003$) pour les PVVIH-1 avec un effet plus important lorsque l'infection par le VIH-2 précédait l'infection par le VIH-1 chez les coinfectés. Cela a fait émettre l'hypothèse qu'une infection préexistante par le VIH-2 aurait un effet inhibiteur sur la progression de l'infection par le VIH-1 (Esbjörnsson et al., 2012). Chez les policiers guinéens, on a également rapporté une durée de survie plus longue chez les coinfectés que chez les PVVIH-1 : 11,3 ans (IC 95% = 9,9 – 12,7) contre 8,2 ans (IC 95% = 7,5 – 8,8); $p = 0,072$ (Esbjörnsson et al., 2014). Cet effet a été remis en cause par plusieurs auteurs (De Silva et al., 2012; Van Tienen et al., 2012; Vannberg et al.; 2012). La méta-analyse de six études sur l'effet du sérotype a trouvé un HR de 1,11 (IC 95% = 0,95 – 1,30) (Prince et al., 2014). Par rapport aux PVVIH-1, quatre études ont rapporté un risque de décès plus élevé chez les coinfectés avec un HR qui variait de 1,07 à 1,31 quoiqu'aucune différence n'était significative dans ces études (Hansmann et al., 2005; Kassim et al., 1995; Norrgren et al., 2010; Van Tienen et al., 2011). Deux études ont rapporté un risque de décès inférieur chez les coinfectés avec des HR de 0,82 (IC 95% = 0,48–1,40) et 0,83 (IC 95% = 0,28 – 2,46) (Gustafson et al., 2007; Holmgren et al., 2007).

En somme, la question sur l'effet du sérotype est encore largement débattue. Notre étude de cohorte permettra d'apporter des informations utiles à ce débat qui est propre à l'Afrique de l'Ouest avec la 2^e cohorte la plus importante en termes d'effectif et de durée de suivi. En plus, notre population d'étude constituée de PVVIH ayant un niveau de CD4 ≥ 350 est assez rare en PRL et a l'avantage de pallier à certaines limites des études précédentes soit la non-restriction aux patients avec un état d'immunodépression avancé, des effectifs faibles, des durées de suivi courtes ainsi que beaucoup de pertes au suivi.

1.2.3. Autres déterminants de la mortalité au cours de l'infection à VIH

L'étude de la phase pré thérapeutique rapporte des proportions plus importantes de décès et de perdus de vue dans les PRL (Amuron et al., 2009; Bassett et al., 2009; McGrath et al., 2010; Togun et al., 2011) par rapport aux pays développés. Plusieurs études ont étudié les facteurs prédictifs de perte au suivi, mais aussi et surtout les facteurs de risque de décès dans les PRL (Hansmann et al., 2005; Jaffar et al., 2004; Koech et al., 2014; Lawn et al., 2008; Mecha et al., 2016; Mugisha et al., 2014; Nyamweya et al., 2012; Reidy et al., 2014; Van der Paal et al., 2007). Dans ces études, l'âge et le sexe ont été presque tout le temps pris en compte, mais n'ont pas été toujours retrouvés comme facteurs de risque indépendants de décès. Le niveau de CD4 bas (< 200 ou < 100 voire < 50) est apparu comme le facteur de risque indépendant de décès le plus constant et le plus fort. Le sérotype viral, le stade clinique, l'indice de masse corporelle (IMC), le taux d'hémoglobine (Hb), le mode de transmission, la charge virale et le niveau d'AIC ont été moins souvent évalués et n'ont pas été retrouvés dans toutes ces études.

1.3. Activation immunitaire chronique au cours de l'infection à VIH

1.3.1. Définition

Le terme « activation immunitaire » décrit l'activation des composants cellulaires du système immunitaire, qui peut à son tour conduire à une inflammation systémique. Elle est généralement détectée par l'expression de marqueurs cellulaires ou solubles dérivés de réponses immunitaires innées ou adaptées (Hsu et al., 2014).

1.3.2. Physiopathologie

En 1984 déjà, Kotler et al. (1984) mettaient en évidence un processus pathologique spécifique au niveau de la muqueuse gastrointestinale appelée « entéropathie VIH ». Par la suite, il a été établi que la déplétion précoce de cellules CD4 est beaucoup plus importante au niveau de la muqueuse gastrointestinale que dans le sang périphérique dans l'infection par le

VIH et l'infection par le virus d'immunodéficience simienne (VIS) (Brenchley et al., 2004 ; Clayton et al., 1997 ; Schneider et al., 1995 ; Smit-McBride Z et al., 1998). La perte des CD4 s'accompagne d'une altération fonctionnelle des lymphocytes et d'une altération structurelle du tractus gastrointestinal qui contribuent à une activation immunitaire systémique (Gordon et al., 2010; Klatt et al., 2012).

Au cours de la transition entre une infection aiguë et une infection chronique à VIH, l'AI demeure bien que la réplication du VIH est réduite, mais pas complètement supprimée par la réponse immunitaire adaptée de l'hôte. Et pendant la longue phase chronique de latence de l'infection, l'AI persiste et devient chronique. Le niveau d'AIC est positivement corrélé à la charge virale VIH et prédit le rythme d'épuisement des cellules T CD4 associées au VIH et au VIS (Deeks et al., 2004 ; Giorgi et al., 1999 ; Marchetti et al., 2013; Mellors et al., 2007). Plusieurs facteurs contribuent à l'AI dans l'infection chronique à VIH. Il s'agit notamment de l'immunité non spécifique, de la présence du VIH et de ses antigènes, de la translocation microbienne, des coinfections et de la prolifération homéostatique en réponse à l'appauvrissement des lymphocytes T CD4 (Doisne et al., 2004 ; Hunt et al., 2011 ; Münch et al., 2007 ; Paiardini et al., 2013 ; Schindler et al., 2006 ; Wittkop et al., 2013).

L'ARN du VIH peut activer les cellules dendritiques plasmocytoïdes par liaison aux récepteurs de reconnaissance des formes tels que Toll-like Receptor (TLR 7), conduisant à la sécrétion d'interféron de type I (IFN-I) (Beignon et al., 2016 ; Heil et al., 2004). Le VIH peut également entraîner l'activation spécifique des cellules T CD8 et CD4 spécifiques au VIH (Catalfamo et al., 2011 ; Srinivasula et al., 2011). Le niveau de la charge virale est en corrélation avec l'activation lymphocytaire T, mais il n'est pas le seul corrélat de l'AI. En effet, les marqueurs de cette AI peuvent être retrouvés lorsque la charge virale du VIH est indétectable par des tests classiques chez des patients sous TARV ou chez les « elite controllers » avec contrôle spontané de la charge virale du VIH (Hsu et al., Hunt et al., 2008; 2014; Psomas et al., 2016).

La « translocation » intestinale de bactéries ou d'autres microbes est définie comme le passage non physiologique de la microflore gastro-intestinale à travers la barrière épithéliale intestinale et la lamina propria et finalement aux ganglions lymphatiques mésentériques locaux et, à partir de là, aux sites extra nodaux. Elle est une caractéristique de l'infection à

VIH (Brenchley et al., 2006 ; Brenchley & Douek, 2012 ; Klatt et al., 2013). Le mécanisme sous-jacent d'augmentation de la perméabilité de la barrière de la muqueuse est attribué à une réplication virale massive initiale et un épuisement rapide des lymphocytes T CD4 + intestinaux, y compris les cellules Th17, l'endommagement d'entérocytes et la dégradation des jonctions étroites d'épithélium de l'intestin, qui peuvent collectivement faciliter le passage des microbes ou des produits microbiens y compris le lipopolysaccharide (LPS) dans la circulation sanguine. Le LPS, utilisé comme un indicateur quantitatif de la translocation microbienne, est connu comme un activateur de cellules immunitaires innées via TLR. Il va donc secondairement interagir avec les monocytes et les activer, conduisant ainsi à l'entretien de l'inflammation et de l'activation du système immunitaire au long cours. Chez les patients infectés par le VIH, les taux du LPS bactérien sont élevés dans le sang. Ils diminuent sous TARV sans pour autant revenir au niveau de celui des personnes non infectées par le VIH (Brenchley et al., 2006 ; Brenchley et al., 2008 ; Hunt et al., 2008 ; Marchetti et al., 2013 ; Miedema et al., 2013 ; Psomas et al., 2016 ; Stellbrink et al., 2010).

La baisse du niveau de CD4 au cours de l'infection à VIH peut induire la réactivation et la réplication de certains virus comme le virus de l'hépatite C (VHC), le cytomégalovirus (CMV) et le virus Epstein-Barr (EBV). Ce qui, en association avec les réponses immunitaires innées ou adaptatives, va induire une AIC (Hsu et al., 2014 ; Psomas et al., 2016 ; Sereti et al., 2016 ; Stellbrink et al., 2010). La chute des cellules T CD4 dans l'infection à VIH peut aussi stimuler les mécanismes homéostatiques physiologiques conduisant à la prolifération persistante des lymphocytes en réponse aux cytokines IL-2, IL-7 et IL-15. Ce qui mènera à la différenciation de cellules T effectrices pro-inflammatoires, contribuant ainsi à l'AI (Figure 4) (Appay et al., 2008 ; Hsu et al., 2014 ; Psomas et al., 2016).

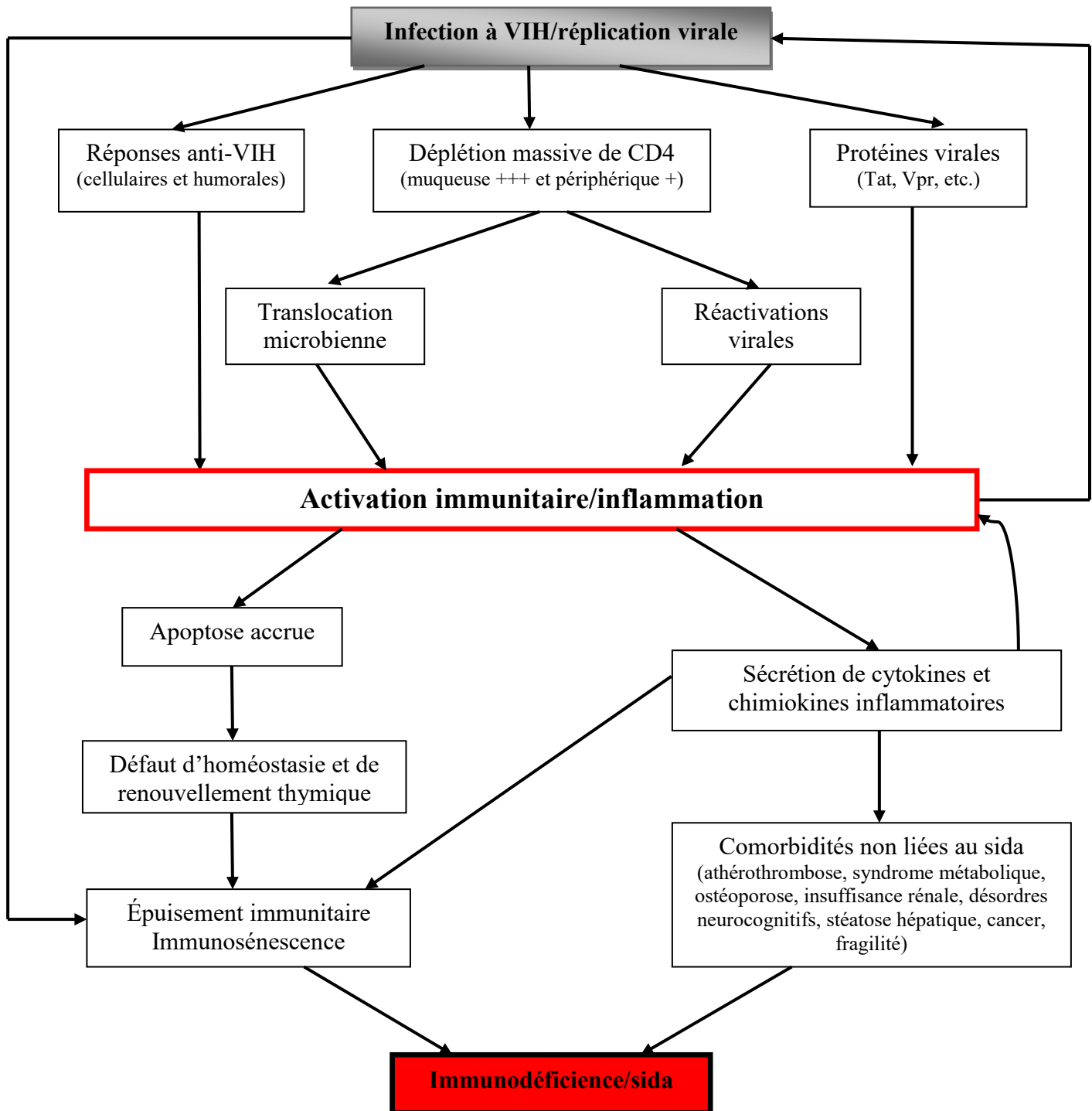


Figure 4. Causes et conséquences de l'activation immunitaire au cours de l'Infection à VIH. Adapté d'après (Appay et Sauce, 2008).

1.3.3. Marqueurs

Une activation forte du système immunitaire peut se mettre en route dès la primo-infection. Elle se poursuit durant tout le cours de l'infection, aboutissant à la production de multiples cytokines pro et anti-inflammatoires. Cette AIC peut se mesurer à partir de plusieurs marqueurs. On peut les distinguer en marqueurs cellulaires et marqueurs solubles.

L'étude des marqueurs cellulaires a permis de mieux comprendre l'infection à VIH. Il s'agit de marqueurs exprimés à la surface ou à l'intérieur des cellules concernées. Leur caractérisation est souvent faite par cytométrie de flux grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux. Il s'agit de techniques coûteuses et sophistiquées avec des marquages intracellulaires et extracellulaires. Certains des marqueurs les plus étudiés sont présentés dans le tableau I.

Tableau I. Marqueurs cellulaires de l'activation immunitaire au cours de l'infection à VIH
(liste non exhaustive)

Marqueurs cellulaires	
Système immunitaire inné (cellules dendritiques et cellules natural killers)	CD83, CD86, CD70, CD69, CD56, CD25, CD16
Système immunitaire adaptatif (lymphocytes T CD4 et CD8)	<ul style="list-style-type: none"> - Activation: HLA-DR, CD38, Ki67 - Sénescence des lymphocytes T: CD28, CD57 - Épuisement des cellules T: PD-1

Parmi les plus connus, on peut citer : CD38, HLA-DR, CD25, CD69 (Giorgi al., 1999 ; Giorgi et al., 2002 ; John et al., 2010). Au cours de l'infection à VIH, les LT CD4⁺ et CD8⁺ expriment fortement les marqueurs d'activation CD38 et HLA-DR, tant en fréquence de cellules HLA-DR⁺/CD38⁺ qu'en intensité. L'existence d'une corrélation positive entre la proportion de cellules T CD8⁺HLA-DR⁺ ou CD38⁺ et le développement d'infections

opportunistes a été démontrée. Cette augmentation des cellules T CD8⁺ activées est associée à une baisse des proportions de cellules T CD4. De même, les fortes expressions membranaires de CD25 et CD69 ont été également associées à la progression de l'infection à VIH (Dunham et al., 2008; Mahalingam et al., 1993; Psomas et al., 2016). Outre les marqueurs membranaires HLA-DR et CD38, d'autres marqueurs cellulaires reflétant l'homéostasie lymphocytaire au cours du VIH ont été utilisés dans des études antérieures. Ainsi, le profil de sénescence CD28⁻/CD57⁺, ainsi que l'expression du marqueur d'épuisement PD-1, sont associés à une perte de fonction lymphocytaire T CD8 et CD4 mais également B (Brenchley et al., 2003 ; Day et al., 2006 ; Nixon et al., 2010; Petrovas et al., 2006; Psomas et al., 2016; Sousa et al., 2002; Trautmann et al., 2006).

Les marqueurs solubles sont le plus souvent des cytokines pro- et anti-inflammatoires, des chimiokines, des facteurs d'activation de la voie de la coagulation, des marqueurs membranaires clivés, ou encore des marqueurs d'adhérence cellulaire comme les intégrines et les sélectines. Une réplication virale continue et un déficit immunitaire contribueraient de manière significative à une augmentation non seulement du niveau des biomarqueurs de l'inflammation, mais également à ceux de l'activation de la coagulation (D-dimères) et de l'activation des monocytes (sCD14). Plusieurs marqueurs solubles de l'AIC ont été identifiés (tableau II). Ces marqueurs solubles ont l'avantage d'être facilement mesurables et à faible coût. Ils peuvent être dosés par Elisa ou système Multiplex (Nyamweya et al., 2012) qui sont des technologies largement disponibles en Afrique ; d'autant plus que des techniques de fixation des échantillons de sang par des stabilisateurs, peuvent permettre le transport des échantillons provenant de centres périphériques vers les laboratoires de référence (John et al., 2010).

Plus spécifiquement, la bêta-2-microglobuline (β 2m) est reconnue comme un marqueur de l'AI systémique (Grey et al., 1973). La β 2m est une protéine de faible poids moléculaire présente à la surface de toutes les cellules nucléées, sur les lymphocytes et les macrophages, mais pas sur les érythrocytes (Bernier et al., 1972; Kefford et al., 1984; Kin et al., 1979; Peterson et al., 1974). Elle est libérée dans tous les fluides biologiques à faible et constante concentration : 0,13 mg/kg/h. Les niveaux sériques et plasmatiques de β 2m augmentent dans certaines conditions, y compris l'activation immunitaire systémique. Le taux sérique de β 2m

augmente également au cours de la maladie rénale et le taux urinaire en cas d'atteinte tubulaire rénale (Hofmann et al., 1990 ; Svatoňová et al., 2014). Le niveau plasmatique de $\beta 2m$ est facilement mesurable à partir de tout échantillon de sang, avec un coût très faible.

Tableau II. Marqueurs solubles de l'activation immunitaire chronique au cours de l'infection à VIH (liste non exhaustive)

Marqueurs solubles	
Inflammation	Facteur de nécrose tumorale (TNF) α , récepteur TNF soluble-1 et -2, IFN- γ , IL-1, -6, -8, -10, -12, -13, -17, -18 et -23, MCP-1, MIP, $\beta 2m$, néoptérine et suPAR -1 α et -1 β , CRP, sCD163
Coagulation	D-dimère, thrombine / anti-thrombine, facteur tissulaire soluble (sTF), VCAM-1, sICAM
Translocation microbienne	sCD14, lipopolysaccharide (LPS), anti-anticorps anti-LPS (EndoCab), ADN bactérien 16s, LBP
Marqueurs solubles de l'activation des lymphocytes T	CD27 soluble, ligand CD40 soluble, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL13, sIL-2R

1.3.4. Importance clinique

1.3.4.1. Progression de l'infection à VIH

Le rôle de l'AIC dans la progression de l'infection à VIH a été attesté par plusieurs études. L'étude « Strategies for the Management of AntiRetroviral Therapy (SMART) » a montré que les taux plasmatiques d'interleukine-6 (IL-6), de CRPus et de D-dimère étaient des prédicteurs indépendants de la mortalité dans l'infection à VIH mais également d'infections opportunistes pour l'IL-6 et la CRPus (Armah et al., 2012 ; Funderburg et al., 2016; Kuller et

al., 2008 ; Nixon et al., 2010 ; Thiébault et al., 2012). Par ailleurs, plusieurs équipes ont mesuré l'évolution de ces biomarqueurs sous TARV, ainsi que leurs liens avec la morbidité et la mortalité. La CRPus, l'IL-6 et les D-dimères ont été associés à la survenue d'événements non classant sida et quoique réduits après la suppression de la charge virale sous TARV, ils demeuraient toujours plus élevés que chez les sujets non infectés par le VIH (Bagalopal et al., 2016; Ghislain et al., 2015; Kamat et al., 2012; McComsey et al., 2014 ; Neuhaus et al., 2010). Néanmoins, l'utilité des paramètres tels que l'IL6 et la CRPus est limitée par le fait qu'ils sont associés à toutes les causes d'inflammation, et ne peuvent être associés à des mécanismes physiopathologiques précis que de manière limitée.

Aussi, outre l'IL6 et la CRPus, il a pu être montré que le « soluble tumor necrosis factor receptor-1 » (sTNFR-1), un marqueur d'engagement de la voie du récepteur au TNF, ainsi que le CD27 soluble (sCD27) ou le ligand soluble de CD40 (sCD40L), deux marqueurs d'activation cellulaire T, étaient également associés au risque d'infections opportunistes ou de décès chez les patients progressseurs (Kalayjian et al., 2010; Nixon et al., 2010).

Parmi les chimiokines, CXCL9 (MIG : monokine induite par l'interféron- γ) et CXCL10 (IP-10 : interféron inductible protéine-10) sont produites par différentes cellules et des lymphocytes cibles, particulièrement les cellules T activées. Le niveau élevé d'IP-10 pendant la primo-infection par le VIH-1 a été associé à l'importance de la charge virale initiale ainsi qu'à la baisse du nombre de cellules CD4 (Hattab et al., 2015 ; Stiksrud et al., 2016). En phase chronique, il a été montré qu'IP-10 diminuait chez les patients sous TARV efficace au long cours (Malherbe et al., 2014) ; comme il a été aussi rapporté que la chimiokine CXCL13 était associée à une mortalité à long terme même chez les sujets VIH ayant une charge virale indétectable (Wada et al., 2016).

Le poids des molécules d'adhésion cellulaire a également été évalué depuis de nombreuses années comme marqueur de l'altération cellulaire en particulier des cellules endothéliales. Ainsi, les formes solubles d'ICAM (intercellular adhesion molecule) et de VCAM-1 (vascular adhesion molecule 1) pourraient éclairer les mécanismes des événements cardiovasculaires chez les patients infectés par le VIH. Les taux élevés de sICAM en particulier sont associés à la survenue d'événements classant sida et ils demeurent ainsi après la suppression virale sous TARV (Grome et al., 2016; McComsey et al., 2014).

Les formes solubles des marqueurs d'activation monocytaire, en particulier le CD14 soluble et le CD163 soluble, ont été beaucoup étudiées ces dernières années. Ainsi, le CD14, marqueur de la lignée monocytaire, est clivé en réponse à leur activation, notamment par les mécanismes endotoxiniques médiés par le LPS. Elevé au cours du VIH, il est associé à la morbidité mais également à la mortalité toute cause confondue (Armah et al., 2012 ; Justice et al., 2012 ; Sandler et al., 2011; So-Armah et al., 2016 ; Thiébaud et al., 2012). Le CD163, haptoglobine-hémoglobine, appartenant à la famille des récepteurs scavenger est exprimé principalement à la surface des macrophages et des monocytes. Des études récentes ont montré que les niveaux de sCD163 étaient élevés chez les PVVIH et ces niveaux restent élevés malgré le TARV, ce qui suggère une activation résiduelle des monocytes/macrophages même en cas de charge virale indétectable. De même, il a été montré que les taux élevés de CD163 sont associés à un risque cardiovasculaire élevé (Bygum et al., 2016 ; Hunt et al., 2016).

Les marqueurs $\beta 2m$, néoptérine et soluble urokinase-type plasminogen (suPAR) ont été reconnus comme bien corrélés à la progression de l'infection à VIH chez les PVVIH naïves : les niveaux de ces biomarqueurs présentaient une corrélation positive avec la charge virale plasmatique, une corrélation négative avec le niveau de CD4 (Amirayan-Chevillard et al., 2000; Anderson et al., 1990; French et al., 2009; Kiepiela et al., 2005; Mildvan et al., 2005 ; Piwowar et al., 1995; Sidenius et al., 2000).

1.3.4.2. Événements non-classant sida

L'efficacité des TARV modernes a transformé l'infection à VIH en une maladie chronique caractérisée par un état persistant d'inflammation et d'activation immunitaire. Pour cette raison, même si la mortalité liée au sida a été réduite avec une augmentation de l'espérance de vie, les PVVIH sont plus susceptibles de développer des événements non liés au sida malgré une charge virale indétectable. Bien que les niveaux des marqueurs d'activation immunitaire, d'inflammation et de coagulation diminuent habituellement sous TARV, ils restent anormalement élevés chez de nombreuses PVVIH. Et cette AI persistante est un facteur important de survenue d'événements non-classant sida tels que l'athérosclérose, l'ostéoporose, le syndrome métabolique, les troubles neurocognitifs, la stéatose hépatique, l'insuffisance

rénale et certains types de cancer (McComsey et al., 2014 ; Hsu et al., 2016; Hunt 2012; Baker, 2013). De même les « elite controllers » et les « viremic controllers » (charges virales entre 50-2000 copies/mL en l'absence de TARV pendant plusieurs années) ont des niveaux d'AI élevés par rapport aux sujets séronégatifs et aux patients VIH bien contrôlés sous TARV (Hunt PW et al., 2008). Ce qui augmente leur risque de développer des événements non-classant sida. Une étude faite sur une population de militaires aux Etats-Unis a trouvé que le principal motif d'hospitalisation des patients « HIV controllers » et des patients VIH bien contrôlés sous TARV était lié à un événement non-classant sida. Cela indique qu'un suivi soutenu dans la durée de ces sujets est nécessaire, en particulier pour évaluer les phénomènes associés au vieillissement, tel le développement de maladies cardiovasculaires (Crowell et al., 2016). Par ailleurs, un faible ratio CD4/CD8 a été reconnu comme associé à la survenue d'événements non classant sida indépendamment du nadir de CD4 ou du dernier niveau de CD4 (Bruno et al., 2017; Mudd et al., 2014 ; Serrano-Villar et al., 2014).

1.3.5. Activation immunitaire chronique chez les couples sérodiscordants

En 2016, 64% des nouvelles infections à VIH dans le monde étaient survenues en Afrique subsaharienne et la majorité d'entre elles faisait suite à une transmission sexuelle (UNAIDS, 2017b). Une proportion importante de ces nouvelles infections survient chez les CHSD (Chemaitelly et al., 2012; Dunkle et al., 2008). Les PS, les HSH et les couples sérodiscordants sont particulièrement exposés à la transmission sexuelle du VIH; de même que les UDI qui sont également très exposés à la transmission sanguine du VIH. Cependant, certains de ces individus demeurent séronégatifs au VIH bien que régulièrement exposés : ils sont appelés ESN (exposés séronégatifs). Plusieurs questions se posent à leur propos :

- 1) Pourquoi certains de ces individus soumis à une exposition relativement importante au VIH ne développent pas une infection à VIH alors que d'autres y sont très susceptibles ?
- 2) Auraient-ils une certaine protection contre l'infection à VIH ? Et dans ce cas :
- 3) S'agit-il de facteurs génétiques ou de facteurs immunitaires ?

Ces questions restent sans réponse définitive. Dans tous les cas, ces ESN présentent un profil immunitaire particulier et intéressant pour l'identification des corrélats de susceptibilité ou de protection contre le VIH et le niveau d'AIC pourrait être un de ces facteurs. A ce propos, une AIC muqueuse et systémique a été déjà mise en évidence dans cette population (Biasin et al., 2000). Cette AI ne serait pas tout à fait similaire à celle observée chez les PVVIH. Au moins, deux mécanismes ont été avancés pour expliquer ces différences. D'une part, les cellules CD4 des ESN sont moins susceptibles d'être infectées que celles des PVVIH et donc, il ne se produit pas d'AIC aberrante chez les ESN. D'autre part, les cellules TCD4 régulatrices (Treg) qui suppriment les réponses immunes sont plus abondantes dans le lavage vaginal chez les ESN que chez les autres individus susceptibles à l'infection à VIH (Card et al., 2013; Prodger et al., 2014).

Des études ont comparé les niveaux d'AIC des ESN à des témoins séronégatifs non exposés et des PVVIH. Chez des UDI à Bangkok, il a été rapporté une AIC systémique et un profil d'AIC chez ces derniers plus proche de celui des PVVIH que de celui des personnes séronégatives (Tran et al., 2006). En Ouganda, Kebba et al. (2004) avaient trouvé des niveaux d'AIC systémiques plus faibles chez des CHSD que chez des PVVIH alors que Restrepo et al. (2010) n'ont pas trouvé de différence statistiquement significative entre les niveaux d'AIC des ESN et ceux de PVVIH en Espagne. Dans une cohorte d'Amsterdam, le niveau d'activation des cellules T CD4 avant séroconversion était plus bas chez les HSH exposés non infectés par rapport à des contrôles qui ont fait une séroconversion VIH après un délai \geq six mois (Koning et al., 2005).

Des études ont aussi comparé le niveau d'AIC chez des témoins non exposés ou à faible risque d'infection à VIH et des ESN. Certains auteurs rapportent des niveaux d'AIC plus élevés chez les ESN tels les CHSD (Biasin et al., 2000; Kebba et al., 2004; Restrepo et al., 2010), les travailleuses du sexe (Jennes et al., 2003), les UDI (Tran et al., 2006) et les HSH (Palmer et al., 2014) alors que d'autres rapportent des niveaux d'AIC plus bas (Card et al., 2009; Bégaud et al., 2006; Camara et al., 2010; Jennes et al., 2006; Songok et al., 2012). Les travailleuses du sexe ESN présentaient un niveau d'AI plus bas que des témoins séronégatifs au Kenya. Chez ces TS, cette AI réduite serait à l'origine d'un phénomène

d'immunoquiescence qui pourrait contribuer à la résistance à l'infection à VIH (McLaren et al., 2010).

Concernant l'association entre ESVIH et niveau d'AIC chez les ESN, elle a été précédemment étudiée au Sénégal. Cette étude a porté sur une population de 26 ESN recrutés à partir de CHSD. Elle a trouvé une corrélation négative entre l'expression des CD38 sur les cellules T CD4+ et l'utilisation du préservatif chez les ESN. Cette AIC n'était pas associée à la durée de la vie avec le partenaire infecté ou à la fréquence des rapports sexuels (Camara et al., 2010). Parmi 10 CHSD ougandais, une corrélation négative entre la charge virale du partenaire infecté et les réponses immunes a été rapportée (Kebba et al., 2004). En Espagne, Restrepo et al. (2010) ont rapporté un lien entre l'exposition au virus et les altérations immunitaires observées chez 24 partenaires séronégatifs de CHSD. De façon similaire, Suy et al. (2007) ont mis en évidence une association entre l'exposition au virus et l'AI chez 21 CHSD caractérisés par une CV chez le partenaire infecté > 3000 copies/mL à Barcelone. Biasin et al. (2000) ont aussi démontré une association entre l'exposition au VIH et l'AI parmi neuf CHSD quoiqu'ils n'avaient pas quantifié l'ESVIH. Dans une étude récente, on a retrouvé que les PS avaient des niveaux d'AI de la muqueuse cervico-vaginale significativement plus élevés (Abdulhaqq et al., 2016). Par contre, cela ne fait pas consensus puisqu'aucune association entre les marqueurs d'AI n'a été retrouvée en Côte d'Ivoire avec les expositions suivantes: la durée du travail du sexe, le nombre de clients par jour, la fréquence d'utilisation du préservatif ou la survenue d'une IST (Jennes et al., 2003). Par ailleurs, ces études se sont uniquement intéressées aux marqueurs cellulaires de l'AIC dont l'utilisation en santé publique est limitée par les contraintes techniques et financières. Elles ont été généralement descriptives avec de faibles effectifs et quand l'association entre AIC et ESVIH a été mesurée, elle n'a pas été ajustée pour les facteurs confondants potentiels liés au partenaire infecté (la CV, la présence d'IST, le niveau de CD4, la durée de l'infection à VIH), à la personne ESN (la présence d'IST, l'utilisation du condom, l'âge, la fréquence des rapports sexuels), au couple (durée de vie commune, nombre de rapports sexuels) ou encore à l'activité sexuelle hors du couple.

En résumé, l'AIC est de mieux en mieux comprise de même que ses mécanismes physiopathologiques. Son rôle dans la progression de l'infection à VIH semble admis alors

qu'il n'y a pas de consensus sur son effet sur la mortalité en Afrique Subsaharienne chez les PVVIH avec des niveaux de CD4 élevés chez qui l'AIC a été très peu étudiée. Notre étude espère éclairer davantage la question de l'AIC dans l'infection à VIH. Elle mesurera également le niveau d'AIC des ESN comparativement à des PVVIH et des contrôles séronégatifs. L'étude de l'association entre ESVIH et AIC dans cette population pourrait permettre d'identifier des pistes de réflexion concernant les corrélats de susceptibilité et de protection vis-à-vis de l'infection à VIH.

1.3.6. Activation immunitaire chronique et vaccination contre la variole

1.3.6.1. Rappels sur la vaccination contre la variole

La variole est la seule maladie infectieuse qui a été éradiquée. Ce fut en 1980. Ce succès découle de facteurs spécifiques à l'épidémiologie et la virologie de cette maladie ; mais aussi en raison de l'existence de la VCV qui proférait une immunité solide et durable. Cette vaccination se faisait à partir d'un virus vivant : le virus de la variole bovine, puis à partir de 1939, le virus de la vaccine (VACV). Le développement en 1950 d'un vaccin lyophilisé et la mise au point de l'aiguille bifurquée ont permis la mise à l'échelle mondiale de la VCV, aboutissant à l'éradication. Des stratégies de vaccination en masse, puis de vaccination en cercles ou en anneaux (autour des cas) ont été adoptées permettant ainsi d'éviter la transmission interhumaine et endiguer les épidémies de variole. Parmi les particularités de cette vaccination : la VCV laisse une cicatrice caractéristique indélébile (annexe 1), elle procure une immunité solide et durable, mais peut être à l'origine d'effets secondaires. Ces derniers peuvent être graves, comprenant l'encéphalite et des infections sévères qui surviendraient préférentiellement chez les sujets immunodéprimés et ceux présentant un eczéma chez qui la vaccination est donc contre-indiquée (OMS, 2010).

1.3.6.2. Vaccination contre la variole et immunité anti-infectieuse

La VCV, consistant à utiliser un virus vivant dérivé d'un hôte hétérologue pour induire une infection localisée, entraîne une réaction cutanée locale suffisante pour déclencher d'importantes réponses immunitaires qui sont protectrices contre la variole. Des études

antérieures ont montré que la réponse initiale à la vaccination primaire avec la vaccine correspond à une augmentation rapide des niveaux de réponses des lymphocytes T (Kennedy et al., 2004). Cette immunité cellulaire T spécifique de la vaccine peut persister jusqu'à 50 ans comme rapporté précédemment (Demkowicz et al., 1996). De même, en ce qui concerne l'immunité humorale, il a été démontré que les cellules B mémoire spécifiques du virus de la vaccine pouvaient persister pendant plus de 50 ans chez les sujets vaccinés (Crotty et al., 2003).

A l'image des autres nouveaux vaccins, la réponse immunitaire induite par la VCV pourrait être appréciable à deux niveaux. En effet, cette vaccination induit des réponses immunitaires cellulaires et humorales. Une première évaluation de la réponse cellulaire devra alors reposer sur l'étude de la spécificité lymphocytaire T. Elle consiste d'abord en l'isolement des cellules mononuclées du sang (lymphocytes et monocytes) de la personne vaccinée. La deuxième étape sera la phase d'activation des cellules isolées par l'antigène vaccinal. Les niveaux d'activation spécifiques des cellules T CD4 et CD8 seront enfin appréciés par cytométrie en flux par la recherche des marqueurs de surface CD25, CD38 et CD69 antérieurement décrits. Cette technique sera similaire à celle actuellement utilisée dans l'infection tuberculeuse et appelée ELISPOT. Le second niveau d'appréciation d'une activation immunitaire chronique induite par la VCV reposera sur la recherche des cellules B mémoires aisément activables. En effet, il a été démontré une persistance des lymphocytes B mémoires en cas de vaccination contre la variole pendant plusieurs années. La mise en contact de telles cellules avec l'antigène vaccinal permet leur transformation rapide en plasmocytes producteurs d'anticorps. Ces immunoglobulines seront alors dosées par ELISA.

1.3.6.3. Recherches sur la vaccination contre la variole

Depuis l'éradication de la variole, il n'existe que 2 laboratoires où sont conservés les virus de la variole restants : 1) le centre collaborateur OMS pour la variole et les autres poxviroses situé au Centers for Disease Control and Prevention (CDC) d'Atlanta, Georgia (États-Unis) et 2) le centre collaborateur OMS pour le diagnostic des orthopoxviroses et conservatoire des souches et de l'ADN du virus variolique, sis au Centre de Recherche d'État

en Virologie et Biotechnologie VECTOR de Koltsovo, région de Novossibirsk (Fédération de Russie).

Le maintien de ces stocks a été autorisé par l'Assemblée Mondiale de la Santé pour poursuivre des travaux de recherche. Ces recherches portent sur plusieurs points parmi lesquels le développement de nouveaux produits vaccinaux (WHO Advisory Committee on Variola Virus Research, 2016). Des recherches visent à élaborer des vaccins plus sûrs pour la vaccination de routine vu la contre-indication clinique du VACV chez les sujets immunodéprimés et chez les personnes présentant un eczéma. La hantise d'une attaque bioterroriste utilisant le virus de la variole comme arme biologique motive également ces recherches. À ce propos, l'OMS déclare : « *With the development of these technologies, public health agencies have to be aware that henceforth there will always be the potential to recreate variola virus, and therefore the risk of smallpox re-emerging can never be fully eradicated.* » (The Independent Advisory Group on Public Health Implications of Synthetic Biology Technology Related to Smallpox, 2015, p. 35). Parmi ces candidats vaccins, l'ACAM2000 a été homologué aux États-Unis en août 2007, mais ne peut être utilisé que chez les personnes en bonne santé, car il peut provoquer des effets indésirables semblables à ceux des vaccins Lister ou Dryvax. Ces derniers ont été utilisés lors de la campagne d'éradication de la variole (Greenberg et al., 2013; WHO Advisory Committee on Variola Virus Research, 2016). Le LC16m8, vaccin vivant et atténué homologué au Japon depuis 1975 est actuellement stocké au Japon en préparation à une éventuelle menace bioterroriste. Depuis 2014, des articles scientifiques ont été publiés sur la sécurité de la souche LC16m8 du virus de la vaccine chez la souris. Les études ont montré que LC16m8 est environ 5000 fois plus sécuritaire que la souche Lister du virus de la vaccine. Même chez les souris dont l'immunocompétence a été réduite par un traitement avec la cyclosporine, LC16m8 n'induisait aucun signe clinique, contrairement à la souche Lister du virus de la vaccine. La vaccination de souris immunodéficientes a également induit une forte immunité, suggérant que le vaccin LC16m8 pourrait être efficace chez les personnes immunodéprimées. Une étude de surveillance post-commercialisation chez 268 militaires a confirmé la sécurité et l'efficacité du vaccin, sans rapport d'événements indésirables graves. La recherche se poursuit sur les anticorps neutralisants, la séroconversion et le mécanisme de l'efficacité de LC16m8 avec le soutien du CDC (WHO Advisory

Committee on Variola Virus Research, 2016). Il a été montré que le vaccin non reproducteur contre la variole, basé sur la souche du virus de la vaccine Ankara modifiée (MVA) dénommé Imvanex® en Europe et Imvamune® aux USA et au Canada est un candidat prometteur comme vaccin contre la variole, et plus sûr, même pour les personnes immunodéprimées de par sa tolérance et son immunogénicité. Il est actuellement en essai clinique de phase III pour démontrer la non-infériorité d'Imvamune® par rapport au vaccin ACAM2000 et devrait bientôt être soumis à la FDA (Food and Drug administration) pour approbation (Greenberg et al., 2013; WHO Advisory Committee on Variola Virus Research, 2016).

1.3.6.4. Vaccination contre la variole et infection à VIH

Au début des années 1990, Siefkes (1993) a émis l'hypothèse selon laquelle le virus VIH-1, recombinant naturel du virus de la leucémie bovine (BLV) et du virus Visna, aurait peut-être été transféré à l'homme par le biais du programme d'éradication de la variole intensifié mené en Afrique Subsaharienne à la fin des années 1960 et durant les années 1970, mais cette théorie présentait de nombreux points faibles. Dans la même lancée, les professeurs Weinstein et Alibek émettaient l'hypothèse selon laquelle le VIH en Afrique n'avait émergé qu'après que l'immunité naturelle et acquise contre la variole avait diminué dans les populations locales. Partant de cette théorie, ceux-ci ont entrepris une comparaison de la susceptibilité au VIH-1 dans les cellules mononucléaires du sang périphérique des sujets immunisés avec le virus de la vaccine à ceux des donneurs non vaccinés. Ils ont trouvé des taux de réplication du VIH nettement inférieurs chez les sujets vaccinés par rapport à des témoins non vaccinés (Weinstein et al., 2004). L'étude, publiée en 2010 suggérait que l'immunisation préalable avec le virus de la vaccine pouvait conférer à un individu un degré de protection contre l'infection par le VIH ou ralentir la progression, quoique la durée de ces effets restait à être déterminée (Weinstein et al., 2010). Une autre étude menée sur une population d'anciens combattants américains a trouvé qu'après une vaccination robuste, les anticorps neutralisants étaient maintenus pendant des périodes prolongées malgré la chute des cellules CD4 (Kan et al., 2007). Edghill-Smith et al. (2003) soulignèrent qu'une stratégie de vaccination utilisant une approche de prime-boost avec un poxvirus fortement atténué suivi de Dryvax (vaccin contre la variole) pouvait augmenter la tolérance du dit vaccin à partir du modèle animal. Des études menées en Guinée-Bissau en milieux rural et urbain ont rapporté

que la présence d'une cicatrice de VCV était associée à une moindre mortalité même chez les PVVIH ainsi qu'à une plus forte prévalence du VIH-2 (Aaby et al., 2006 ; Jensen et al., 2006). Cependant, dans son édition 2010 intitulée « Analyse scientifique sur la recherche du virus variolique, 1999-2010 », l'OMS indiqua que la vaccination traditionnelle contre la variole entraînerait des complications majeures chez les immunodéprimés, d'où sa contre-indication dans cette population. Cette contre-indication était connue depuis longtemps, car des cas avaient été précédemment décrits. Le plus célèbre a été rapporté en 1987 : il s'agissait d'un jeune recrue militaire infecté par le VIH et qui à la suite de la vaccination contre la variole avait développé une éruption cutanée disséminée. Malgré les traitements, le décès est survenu dans les 18 mois (Redfield et al., 1987). En 2002, au cours d'une table ronde portant sur la VCV et l'infection à VIH, Bartlett et al. (2003) signalaient que bien que la VCV soit contre-indiquée chez les patients immunodéprimés au VIH, celle-ci ne présentait pas de risque élevé chez les patients dont l'infection à VIH était bien contrôlée. Ce qui a été confirmé par d'autres travaux : il a été montré que le vaccin contre la variole, constitué du virus de la vaccine (VACV), était bien toléré chez les patients VIH ayant un niveau de CD4 normal et une charge virale indétectable sous TARV (Amorosa et al., 2003 ; Tasker et al., 2004). Plus tard, Cosma et al. (2007) ont évalué la souche de virus de la vaccine Ankara modifiée (MVA) comme une alternative de vaccin contre la variole chez les patients VIH-1 sous TARV. Les réponses immunitaires observées dans cette étude suggéraient que la MVA hautement atténuée pouvait être utilisée comme vaccin de substitution contre la variole chez les personnes infectées par le VIH-1 sous TARV. En 2012, il a été confirmé que la MVA était un candidat prometteur comme vaccin contre la variole, plus sûr même pour les personnes immunodéprimées, un groupe pour lequel les précédents vaccins contre la variole avaient un profil de sécurité inacceptable (Greenberg et al., 2013).

En somme, la poursuite des recherches sur la VCV a permis de développer différents candidats vaccinaux avec un profil de tolérance encourageant permettant d'envisager leur utilisation chez les PVVIH même immunodéprimées. D'autre part, des études cliniques suggèrent un effet protecteur de la VCV sur le système immunitaire de populations notamment africaines. Un mécanisme à l'origine de cette protection serait lié au concept d'effet non ciblé des vaccins. En effet, les vaccins vivants, tels que le vaccin contre la variole et le vaccin contre

la rougeole, ont des bénéfices à long terme sur la santé, même après la résolution de l'infection ciblée (Muraille, 2016). Il est plausible de penser que la VCV procure une certaine immunité qui ralentit la progression du VIH.

2. Objectifs et questions de recherche

Cette thèse avait pour thème la mortalité et l'activation immunitaire chez les PVVIH naïves de TARV en Afrique de l'Ouest. Il s'agit d'une thèse par articles. Chaque article a concerné une population différente et fait l'objet d'un objectif précis.

2.1. Objectifs

Objectif 1 : Dans une cohorte de PVVIH naïves de TARV en Afrique de l'Ouest, décrire la mortalité globale et la comparer selon le niveau de CD4 initial (350-499/ μ L versus $\geq 500/\mu$ L), selon le type de VIH (VIH-1, VIH-2, VIH-1 + VIH-2) et selon le niveau initial d'activation immunitaire chronique (à l'entrée dans la cohorte).

Objectif 2 : Comparer le niveau d'activation immunitaire chronique entre des exposés séronégatifs (partenaires séronégatifs de couples hétérosexuels sérodiscordants), leurs partenaires infectés et des personnes non infectées et non exposées au VIH.

Objectif 3 : Évaluer l'influence d'une précédente vaccination contre la variole (présence de cicatrice de VCV) sur le niveau d'activation immunitaire chronique de PVVIH naïves de TARV.

2.2. Questions de recherche

A travers l'objectif 1, nous avons voulu répondre aux questions de recherche suivantes :

- 1) Quelle est la mortalité des PVVIH naïves de TARV avec un niveau de CD4 ≥ 350 ?
- 2) Cette mortalité est-elle différente entre les strates de CD4 « 350-499 » et « ≥ 500 »
- 3) Est-ce que la mortalité est différente selon le type de VIH ?
- 4) Est-ce que le niveau d'AIC initial est un facteur de risque de décès ?

Les questions de recherche ciblées par l'objectif 2 étaient les suivantes :

- 1) Le niveau d'AIC des ESN est-il inférieur à celui des partenaires infectés ?
- 2) Le niveau d'AIC des ESN est-il supérieur à celui des personnes non infectées et non exposées au VIH ?
- 3) Le niveau d'AIC est-il associé au niveau d'ESVIH chez les personnes à risque d'infection à VIH ?

L'atteinte de l'objectif 3 devrait nous permettre d'apporter des éléments de réponse à la question suivante :

- 1) Le niveau d'AIC des PVVIH précédemment vaccinées contre la variole est-il différent (inférieur) de celui des PVVIH non vaccinées ?
- 2) Nous avons émis l'hypothèse que les PVVIH précédemment vaccinées contre la variole ont des niveaux d'AIC inférieurs à ceux des PVVIH non vaccinées.

3. Méthodes

3.1. Contexte de la thèse

Cette thèse de doctorat s'inscrit dans un partenariat international : le *West African Partnership for HIV Intervention Research* (WAPHIR) qui regroupe des équipes de recherche du Laboratoire de Bactériologie et Virologie (LBV) de l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (UCAD) au Sénégal, le Medical Research Council (MRC) en Gambie et le Bandim Health Project (BHP) en Guinée-Bissau, ainsi que les partenaires du Nord (Canada, Grande-Bretagne et Danemark). L'objet de WAPHIR est de développer et de mettre en valeur les ressources de cohortes ouest africaines de PVVIH et de renforcer les capacités en techniques de laboratoire et de gestion des essais cliniques. Parmi les ressources disponibles, il y a plusieurs cohortes de PVVIH (l'annexe 2 donne une description de ces cohortes). La population source de notre étude est celle incluse dans ces cohortes. Une cohorte clinique sénégalaise comporte une cinquantaine de CHSD qui a déjà été l'objet d'études spécifiques (Camara et al., 2010). WAPHIR dispose également d'une base de données regroupant les informations sur ces différentes cohortes (4777 PVVIH) et d'une biobanque où sont stockés 8031 prélèvements provenant des patients des cohortes gambiennes et sénégalaises. Notre projet d'étude a utilisé différents devis d'étude, soit une étude de cohorte et deux études transversales analytiques sur différentes sous-populations de WAPHIR. La thèse par articles présente trois objectifs (un pour chaque article) qui ont été réalisés sur trois populations spécifiques. La section suivante présente la méthodologie spécifique à chaque objectif (article).

3.2. Objectif 1

Dans une cohorte de PVVIH naïves de TARV, décrire la mortalité globale et la comparer selon le niveau de CD4 ($350-499/\mu\text{L}$ versus $\geq 500/\mu\text{L}$), selon le type de VIH (VIH-1, VIH-2, VIH-1 + VIH-2) et selon le niveau d'activation immunitaire chronique à l'entrée dans la cohorte.

3.2.1. Type d'étude

Pour répondre au premier objectif, nous avons utilisé un devis d'étude de cohorte prospective.

3.2.2. Population d'étude

La population étudiée a été sélectionnée à partir de la cohorte Fajara/MRC du WAPHIR qui est la seule cohorte parmi celles présentes dans la base de données WAPHIR à disposer d'échantillons de sang congelés, de données cliniques et de mortalité. Cette cohorte est constituée de 4078 PVVIH recrutées à partir 1988 à la clinique de médecine génito-urinaire de Fajara et suivies régulièrement jusqu'à 2010. Après inclusion dans la cohorte, un suivi trimestriel a été mis en place. Pour ceux qui ne se sont pas présentés à la clinique, des travailleurs sociaux ont effectué des visites à domicile pour les inciter à reprendre leur suivi. Les données collectées durant les visites de routine étaient les suivantes : les données démographiques de base (âge, sexe, statut matrimonial, niveau d'éducation et profession), les données cliniques dont le stade clinique (classé selon le système du Center for Diseases Control and Prevention (CDC) et à partir de janvier 1993, selon la classification de l'OMS) (classifications en annexe 3), la sérologie VIH, le niveau de CD4, la charge virale plasmatique, les données sur le TARV et les données de mortalité.

Les PVVIH de la cohorte WAPHIR étaient incluses dans notre analyse si elles présentaient les critères suivants : 1) âge ≥ 16 ans, 2) mesure du nombre de cellules CD4 réalisée dans un délai de trois mois suivant l'entrée dans la cohorte, 3) nombre initial de cellules CD4 $\geq 350/\mu\text{L}$ et 4) durée du suivi > 0 jour. Notre population d'étude était constituée de 908 PVVIH avec une durée de suivi moyenne de 2,5 ans (écart-type = 3,3). Le calcul des puissances pour l'objectif 1 est détaillé à l'annexe 4 (tableaux 1a et 1b).

3.2.3. Cadres conceptuels et mesures

Les facteurs de risque de décès étudiés chez les PVVIH naïves de TARV avec un niveau de CD4 $\geq 350/\mu\text{L}$ ont été pris en compte dans nos analyses (niveau de CD4, sérotype et AIC). Il en est de même des facteurs de confusion éventuels de la relation entre les expositions d'intérêt et le décès; ainsi que de potentiels facteurs de modification de l'effet (âge, sexe,

période de recrutement). Les cadres conceptuels sont présentés à l'annexe 5. La définition et la catégorisation de ces variables sont présentées au tableau 1 de l'annexe 5.

3.2.3.1. Tests sérologiques VIH

Les tests sérologiques suivants ont été utilisés pour déterminer le statut VIH à l'inclusion. Jusqu'en août 1996, nous avons utilisé le Wellcozyme HIV 1+2 (Murex Diagnostics Ltd). En cas de positivité, les échantillons ont été retestés par ELISA spécifique de type Wellcozyme HIV-1 ou HIV-2. À partir d'août 1996: nous avons utilisé le ICEHIV-1.O.2 (Murex). Si positif, les échantillons ont été retestés en utilisant le ICE-HIV-2 test. Les échantillons qui étaient positifs pour les deux types de VIH ont été retestés par Pepti-Lav 1-2 (Sanofi) avec un second test réalisé sur un échantillon prélevé 2 à 8 semaines après le résultat positif initial. Les patients avec au moins un test positif, mais des tests Pepti-Lav non concluants, et les patients avec des résultats incompatibles ont été classifiés comme ayant un statut VIH indéterminé. Des tests de « polymerase chain reaction » (PCR) utilisant des cellules mononucléées de sang périphérique « peripheral blood mononuclear cells » (PBMC) ont été également utilisés pour confirmer les doubles infections.

3.2.3.2. Niveau de CD4

Le pourcentage de CD4 a été estimé sur site par FACScan (Becton-Dickinson, Oxford, UK) jusqu'en août 1997 et par FACS Calibur (Becton-Dickinson) à partir de septembre 1997. Le nombre de CD4 a été calculé à partir du nombre de globules blancs et du pourcentage de lymphocytes. Les mesures sur les différentes lignées de lymphocytes ont été réalisées dès que possible après l'entrée dans la cohorte (premier test sérologique positif).

3.2.3.3. Niveau d'activation immunitaire chronique

L'AIC était représentée par le niveau de $\beta 2m$. Les niveaux plasmatiques de $\beta 2m$ ont été mesurés à l'aide du système automate automatisé Abbott Architect ci4100 (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Allemagne) conformément aux instructions du fabricant en utilisant des réactifs Quantia $\beta 2m$ dans des conditions calibrées. Les échantillons de plasma qui ont été recueillis dans des tubes EDTA ou héparinés ont été décongelés et utilisés pour un dosage

unique. Les résultats sont exprimés en mg/L de β_2m selon la norme internationale de l'OMS (WHO International Laboratory for Biological Standards, 1996).

3.2.3.4. Mortalité

Les données sur la mortalité ont été collectées et mises à jour régulièrement. Les dates de décès ont été extraites des dossiers hospitaliers pour les patients décédés dans une structure hospitalière. Pour les patients décédés hors hôpital, ces dates ont été obtenues à partir d'entretiens avec des proches et des voisins.

3.2.3.5. Autres variables

L'âge, le sexe, le niveau d'éducation, la profession, le stade clinique et la période d'inclusion ont été extraits de la base de données. Elles avaient été collectées à partir des questionnaires et des dossiers cliniques

Les données manquantes dans la base existante ont fait l'objet d'une étude approfondie : une table des données manquantes a été faite mais les dossiers des patients (cahiers d'observation et dossiers sources) n'étaient plus disponibles pour compléter notre base de données.

3.2.4. Analyse des données

La première étape a été de décrire la population, soit ses principales caractéristiques (sociodémographiques, cliniques, paracliniques) à l'entrée dans la cohorte. Ces données ont été regroupées dans un tableau. Pour chaque variable catégorielle, l'effectif a été précisé avec une description des proportions et de leur IC à 95%. Pour chaque variable continue, on a précisé l'effectif, la moyenne avec l'écart type ou la médiane avec l'intervalle inter quartile (IIQ).

3.2.4.1. Quelle est la mortalité des PVVIH avec niveau de CD4 ≥ 350 ?

Pour cette analyse, nous avons utilisé des estimateurs prenant en compte un risque compétitif. Cette méthode s'explique par le fait que dans les analyses de survie classiques, les individus qui n'ont pas présenté l'événement sont censurés à droite à une certaine date (date de fin de suivi, date de dernière nouvelle, etc.) et cette censure doit être aléatoire. Ce qui n'est

pas le cas de la mise sous TARV chez les PVVIH. En effet, la mise sous TARV est assujettie à des critères cliniques (regroupés dans la classification CDC ou OMS) et au niveau de CD4. De ce fait, ce sont les PVVIH qui sont le plus à risque de décès qui sont mises sous TARV. Cet événement n'est donc pas aléatoire et doit être considéré comme un événement concurrentiel ou compétitif du décès. Pour prendre en compte ce type d'événement, des estimateurs prenant en compte le risque compétitif sont les plus adaptés et recommandés (Bakoyannis et Touloumi, 2012; Schöni-Affolter et al., 2011).

Dans cette analyse, l'événement principal est le décès et l'événement compétitif est la mise sous TARV. La durée de survie est la période entre l'entrée dans la cohorte et le décès ou la mise sous TARV. Pour les patients non décédés et non mis sous TARV, les données ont été censurées à la date de dernière nouvelle. La fonction d'incidence cumulée a été calculée en utilisant des estimateurs prenant en compte le risque compétitif avec le décès comme événement principal et la mise sous TARV comme événement compétitif.

3.2.4.2. La mortalité est-elle différente selon le niveau de CD4 ?

Les estimateurs prenant en compte les risques compétitifs peuvent produire des fonctions d'incidences cumulées de plusieurs groupes, mais ne produisent pas de test de comparaison. La comparaison des courbes de survie entre les deux strates de CD4 à l'entrée dans la cohorte (350-499 et ≥ 500) a été effectuée en examinant le chevauchement des limites des IC des incidences cumulées des différentes strates d'intérêt.

Pour évaluer l'association entre la strate de CD4 à l'entrée dans la cohorte « baseline CD4 » (bCD4) (350-499 contre ≥ 500) et la mortalité en présence d'un événement concurrentiel, nous avons utilisé des modèles de régression prenant en compte les risques compétitifs pour calculer les sub-distribution hazard ratios (sHR). Nous avons estimé les sHR bruts et ajustés avec leurs IC95%. Les sHR de Fine et Gray fournissent un risque marginal combiné d'un événement spécifique en présence d'événements associés à un risque compétitif. Le sHR peut être interprété comme le risque de survenue d'un événement d'intérêt de cause spécifique étant donné que l'événement n'est pas survenu par cette cause spécifique jusqu'à un moment donné. Ceci est associé à la fonction d'incidence cumulative qui est la probabilité

de survenue de l'événement d'intérêt due à une cause spécifique dans un temps donné en présence de risques compétitifs (Fine et Gray, 1994; Grover et al., 2016).

La construction du modèle final a été faite selon une procédure manuelle en cinq étapes :

- 1) Spécification des variables : les variables considérées dans le modèle initial ont été déterminées à partir de la littérature, des analyses univariées et des hypothèses de recherche (annexe 5).
- 2) Détermination du sHR brut de l'association entre la strate de CD4 et le décès.
- 3) Évaluation de la confusion : la variation relative du sHR (entre strate de CD4 et variable décès) a permis de retenir ou de retirer les variables d'ajustement du modèle avec un seuil de 10%. Parmi les variables d'ajustement spécifiées dans le cadre conceptuel, celles qui ont modifié le sHR de $\geq |10\%|$ ont été conservées dans le modèle final. Cette analyse a inclus le niveau de CD4 durant le suivi (sCD4) comme variable dépendant du temps.
- 4) Analyse des interactions : les interactions spécifiées dans le cadre conceptuel ont ensuite été ajoutées au modèle. Celles qui n'ont pas été significatives (test de Wald et test du Likelihood Ratio) ont été retirées du modèle alors que celles significatives ont été conservées dans le modèle final.
- 5) Vérification de l'hypothèse de linéarité de l'effet des variables continues et en cas de non-linéarité, une catégorisation ou une transformation arithmétique a été réalisée.

3.2.4.3. Est-ce que la mortalité est différente selon le type de VIH ?

Les analyses ont été identiques à celles décrites dans la section précédente et selon le cadre conceptuel correspondant en annexe 4. L'exposition était le sérotype viral avec trois catégories (VIH-1, VIH-2, VIH-1 + VIH-2), l'événement principal le décès et l'événement compétitif la mise sous TARV.

3.2.4.4. Est-ce que le niveau d'AIC initial est un facteur de risque de décès ?

Les analyses ont été identiques à celles décrites dans la section 3.2.4.2. et selon le cadre conceptuel correspondant en annexe 4. L'exposition était le niveau de $\beta 2m$ avec deux catégories ($\geq 2,59$ mg/L, $< 2,59$ mg/L), l'événement principal le décès et l'événement

compétitif la mise sous TARV. Cette analyse a porté sur un sous-groupe de la population d'étude : les patients qui disposaient d'un échantillon de plasma dans la bio banque WAPHIR (N = 263).

Les modélisations réalisées pour répondre aux questions de recherche 3.2.4.3 et 3.2.4.4 n'ont inclus que des covariables fixes mesurées à l'entrée dans la cohorte.

3.2.4.5. Analyses de sensibilité et de survie classique

Des analyses de sensibilité ont été réalisées pour évaluer l'effet des perdus de vue (PDV) sur les différentes associations. En plus des analyses précédentes, deux autres scénarios ont été envisagés (l'un ayant considéré tous les PDV comme décédés à leur date de dernière nouvelle et l'autre ayant considéré tous les PDV comme vivants à la date de point de l'étude).

En plus des modèles prenant en compte le risque compétitif, nous avons réalisé des analyses de survie classiques (méthode de Kaplan Meier et modèles de Cox) pour rendre compte des différences entre les deux méthodes.

Toutes les analyses ont été réalisées grâce à la version 14 du logiciel Stata.

3.3. Objectif 2

Comparer le niveau d'activation immunitaire chronique entre des exposés séronégatifs (partenaires séronégatifs de couples hétérosexuels sérodiscordants), leurs partenaires infectés et des personnes non infectées et non exposées au VIH.

3.3.1. Type d'étude

Pour atteindre cet objectif, nous avons utilisé un devis d'étude transversale analytique. Elle a été menée au Service des Maladies Infectieuses et Tropicales/Centre Régional de Recherche et Formation à la prise en charge du VIH et maladies associées (SMIT/CRCF) qui est une structure de référence dans la prise en charge des PVVIH située à l'intérieur du centre hospitalier national universitaire (CHNU) de Fann à Dakar, Sénégal.

3.3.2. Population d'étude

Notre population d'étude a été recrutée à partir de la cohorte clinique des CHSD suivie au SMIT/CRCF. Au Sénégal, les CHSD sont suivis dans les mêmes structures que les autres PVVIH. Le partenaire infecté par le VIH est mis sous TARV systématiquement et il leur est conseillé l'utilisation du préservatif mais aucune recommandation officielle n'est faite en termes de procréation. Les CHSD ont été recrutés entre novembre 2013 et mars 2014. Ils étaient inclus dans notre étude si : 1) ils étaient âgés ≥ 18 ans, 2) ils étaient mariés ou vivaient avec un partenaire sérodiscordant au VIH pendant \geq six mois, 3) un partenaire était confirmé séropositif pour le VIH; 4) l'autre partenaire était confirmé séronégatif au VIH; 5) chacun a signé un formulaire de consentement éclairé. Des couples séroconcordants et non infectés par le VIH remplissant les critères suivants ont été recrutés comme témoins si : 1) ils étaient âgés ≥ 18 ans, 2) ils étaient mariés ou vivaient ensemble pendant \geq six mois, 3) les deux partenaires étaient confirmés séronégatifs, 4) chacun a signé un formulaire de consentement éclairé. Notre population d'étude comportait trois groupes distincts : 54 PVVIH (partenaires VIH+ des CHSD), 54 ESN (partenaires séronégatifs des CHSD) et 40 non exposés non infectés (couples VIH- séroconcordants).

3.3.3. Cadres conceptuels et mesures

Le cadre conceptuel a été construit sur la base d'une revue de la littérature (voir annexe 5). Les facteurs de confusion connus de l'association entre le groupe d'étude (VIH-, ESN, VIH+) et l'AIC ont été pris en compte; de même que ceux de l'association entre ESVIH et niveau d'AIC (annexe 5). La définition et la catégorisation de ces variables sont présentées au tableau 2 de l'annexe 5.

Les données ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire (annexe 6). L'interview sur les caractéristiques sociodémographiques et les pratiques sexuelles a été réalisée par un assistant social puis la visite clinique réalisée par un médecin. Un prélèvement de sang a ensuite été réalisé pour les analyses au laboratoire afin de recueillir les données biologiques.

L'ESVIH était représentée par le nombre mensuel moyen de rapports sexuels non protégés (calculé à partir du nombre mensuel moyen de rapports sexuels et la fréquence

d'utilisation du préservatif). La présence (absente si le nombre de rapports sexuels non protégés avec un partenaire infecté par le VIH par mois = 0 ou présente si ce nombre était > 0) et la fréquence (élevée ≥ 2 par mois contre faible si < 2 par mois) de l'ESVIH ont été étudiées comme variables d'exposition.

La sérologie VIH a été appréciée à partir d'un test rapide (Determine) positif confirmé par un autre test rapide (Multispot).

L'AIC était représentée par le niveau de $\beta 2m$ mesuré selon la technique décrite à la section 3.2.3.

3.3.4. Analyses de données

Les différentes caractéristiques de la population ont été décrites par groupe d'étude (VIH-, ESN et HIV+). Les comparaisons des variables catégorielles ont été effectuées en utilisant le test χ^2 . Les variables continues ont été comparées entre deux groupes par le test t de Student ou le test de Mann Whitney/Wilcoxon. Les comparaisons de variables continues entre trois groupes ont été effectuées en utilisant une Anova ou le test de Kruskal Wallis.

L'association entre groupe d'étude (VIH-, ESN et HIV+) et le niveau $\beta 2m$ a été analysée par un modèle de régression logistique (utilisant la médiane du niveau de $\beta 2m$ comme point de coupure). La stratégie de construction de modèle final a été identique à celle adoptée pour l'objectif 1 avec les cinq étapes.

L'association entre ESVIH (présente contre absente et élevée contre faible) et le niveau $\beta 2m$ a été analysée par plusieurs modèles de régression logistique (utilisant respectivement la médiane et le 3^e quartile du niveau de $\beta 2m$ comme points de coupure). La stratégie de construction de modèle final a été identique à celle adoptée pour l'objectif 1 avec les cinq étapes.

Pour chaque association, nous avons également réalisé un modèle de régression linéaire dont les résultats ont été confrontés à ceux des modèles de régression logistique.

Toutes les analyses ont été réalisées avec la version 14 du logiciel Stata.

3.4. Objectif 3

Évaluer l'influence d'une précédente vaccination contre la variole (présence de cicatrice de VCV) sur le niveau d'activation immunitaire chronique de PVVIH naïves de TARV.

3.4.1. Type d'étude

L'influence de la VCV sur le niveau d'AIC a été évaluée à travers une étude transversale analytique menée au SMIT/CRCF entre juillet 2015 et mars 2017 sur une population de PVVIH sénégalaises naïves de TARV.

3.4.2. Population d'étude

La population de notre étude a été sélectionnée à partir de quatre sources : la cohorte clinique des PVVIH suivies au SMIT/CRCF, la cohorte clinique des PVVIH suivies au centre de traitement ambulatoire (CTA), la cohorte clinique des PVVIH suivies au centre de Promotion de la santé (CPS) Hyacinthe Thiandoum et les donneurs de sang dépistés et confirmés VIH positifs au centre national de transfusion sanguine (CNTS) de Dakar. La première étape du processus de sélection était un entretien avec un médiateur (PVVIH travailleuse sociale) de la structure de suivi du candidat participant. Après avoir vérifié que le candidat remplissait les critères d'inclusion dans notre étude, il lui expliquait l'étude dans un langage simple et lui proposait d'y participer. Si le candidat donnait son consentement oral, il se rendait au SMIT/CRCF selon sa convenance pour inclusion dans l'étude. Il était reçu par le clinicien qui a vérifié dans un premier temps que le candidat remplissait bien les critères d'inclusion : 1) suivi ambulatoire au moment de l'étude, 2) naïf de TARV, 3) consentement libre et éclairé signé, 4) être né au plus tard en 1980. Après matérialisation de son accord de participer par la signature du consentement éclairé, un examen clinique complet était réalisé de même qu'un prélèvement de 15 ml de sang. Un effectif de 101 patients a été inclus dans l'étude. Le calcul des tailles d'échantillon envisagées est détaillé dans l'annexe 4.

3.4.3. Cadres conceptuels et mesures

Le cadre conceptuel a été construit sur la base d'une revue de la littérature et des analyses univariées en prenant en compte les facteurs de confusion potentiels de l'association entre la VCV et l'AI. Étant donné l'absence d'étude sur le sujet, nous avons considéré les facteurs de confusion étudiés de l'association entre la VCV et la morbidité/mortalité (annexe 5).

Les données cliniques étaient recueillies au cours de la visite médicale et les données biologiques à partir des rendus de résultat des différents laboratoires. Ces données étaient mentionnées sur une fiche d'évaluation clinique et paraclinique ou « Case Report Form (CRF) » conçue pour les besoins de l'étude (annexe 7).

La variable d'exposition était l'antécédent de vaccination contre la variole. Les données sur les antécédents de VCV étaient recueillies au cours de la visite médicale (à partir de l'interrogatoire et de l'examen clinique). La cicatrice de VCV est facile à reconnaître à partir des critères suivants : elle est enfoncée, avec une zone centrale lisse, un bord périphérique rugueux, des lignes partant du centre vers l'extérieur (annexe 1). Elle est plus grande que la cicatrice de vaccination laissée par le bacille de Calmette et Guérin (BCG) qui est située sur la partie supérieure du bras gauche avec un centre surélevé. Deux cliniciens se sont prononcés indépendamment sur la présence ou non de la cicatrice de VCV et les cas concordants (accord sur présence ou absence) ont été retenus. Un échantillon de sang a été prélevé le même jour et acheminé au laboratoire pour dosage de la $\beta 2m$ et d'autres paramètres biologiques.

Le critère de jugement était le niveau de $\beta 2m$ mesuré selon le même procédé décrit en 3.2.3.

Les autres variables étudiées étaient les caractéristiques sociodémographiques, les données cliniques, les données en rapport avec l'infection à VIH et la présence de comorbidités tel que mentionné dans le cadre conceptuel (annexe 5). La description et la catégorisation des variables incluses sont aussi présentées au tableau 3 de l'annexe 5.

3.4.4. Analyses des données

Les différentes caractéristiques de la population ont été décrites selon la présence ou non d'une cicatrice de VCV (présence contre absence). Les comparaisons des variables catégorielles ont été effectuées en utilisant le test χ^2 . Les variables continues ont été comparées à l'aide du test t de Student ou le test de Mann Whitney/Wilcoxon.

L'évaluation de l'effet des antécédents de VCV sur le niveau d'AI a été faite à partir d'un modèle de régression linéaire et de modèles de régression logistique. Dans le premier cas, la variable dépendante était le niveau de β_{2m} (variable continue) alors que dans le 2e cas, la variable dépendante était un niveau de $\beta_{2m} \geq$ médiane ou un niveau de $\beta_{2m} \geq$ 4e quintile. La stratégie de construction de modèle final a été identique à celle adoptée pour l'objectif 1 avec les cinq étapes. Plusieurs analyses de sous-groupes ont été également réalisées pour confirmer la validité interne de nos mesures d'association.

Toutes les analyses ont été faites avec la version 14 du logiciel Stata.

3.5. Aspects éthiques et réglementaires

Le projet WAPHIR a bénéficié d'un avis éthique favorable et d'une autorisation administrative du Comité National d'Éthique de la Recherche en Santé (CNERS) du Sénégal.

Pour chaque étude transversale, un protocole de recherche a été soumis au préalable au CNERS du Sénégal pour évaluation éthique et obtention d'une autorisation administrative du ministère de la santé et de l'action sociale (MSAS). Un avis éthique favorable ainsi que l'autorisation du MSAS ont été obtenus avant que ne débute l'étude. Une notice d'information et un formulaire de consentement éclairé ont été remis aux participants. La signature du consentement éclairé après lecture exhaustive de la notice d'information était nécessaire pour participer à l'étude. Tous les documents de l'étude ont été rendus anonymes avec le seul numéro du participant.

Notre protocole de thèse a été également soumis au Comité Éthique du CHU de Sainte-Justine à Montréal au Canada et son approbation a été obtenue.

4. Résultats

4.1. Article 1 : Mortalité chez les PVVIH naïves de TARV avec un niveau de CD4 > 350/μL en Afrique de l'ouest

Title

Mortality among ART-naive HIV people with CD4 cell count $\geq 350/\mu\text{L}$: effects of CD4 cell stratum, HIV serotype and immune activation

Short title: CD4 cell stratum, immune activation, HIV serotype, mortality, West Africa

Authors

Assane Diouf^{1,2,3}, Helen Trottier^{2,3}, Gilleh Thomas⁴, Abdoulaye Seck⁵, Moussa Thiam^{6,7}, Mouhamed Ndongo Sangaré^{2,3}, Souleymane Mboup⁷, Vinh-Kim Nguyen^{2,8}, Assan Jaye⁴

Affiliations

¹Department of Infectious Diseases/Regional Research and Training Center on HIV and Associated Diseases, Fann's University Hospital Center, Dakar, Senegal

²School of Public Health, Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada

³Sainte-Justine University Hospital Research Center, 3175 Côte Sainte-Catherine, Montreal, Canada

⁴Medical Research Council Unit The Gambia

⁵Pasteur Institute, Dakar, Senegal

⁶Laboratory of bacteriology and virology, Aristide Le Dantec's University Hospital Center, Dakar, Senegal

⁷IRESSEF: Institut de Recherche en Santé, de Surveillance Épidémiologique et de Formation, Dakar, Sénégal.

⁸Research Center of the Montreal University Hospital Center (CRCHUM), Montreal, Canada

État actuel

Le manuscrit a été soumis pour publication à la revue « Plos One » le 02 janvier 2018.

Contribution de l'étudiant

L'étudiant a participé à dessiner le devis d'étude. Il a participé à l'extraction des échantillons concernés de la biobanque du projet WAPHIR, a coordonné la réalisation des analyses supplémentaires de β 2m et de charge virale sur ces échantillons. Il a réalisé l'exploitation des données sous la supervision de sa directrice et écrit la première version du manuscrit sous la supervision de sa directrice et de son codirecteur.

Corresponding author

Dr Assane DIOUF

Address: Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, CHU Sainte-Justine Research Center, 3175 Chemin de la Côte-Ste-Catherine, Room B.17.002, Montreal, Qc, Canada, H3T 1C5. Phone: 514-345-4931 (extension 7152), Fax: 514-345-4801
Email: a.diouf@umontreal.ca

Authors' contributions

AD, HT, VKN and AJ conceived the work

AD, GT, MT and AS coordinated data collection and quality control

AS realized beta-2-microglobulin measurements

MT realized viral load measurements

AD and HT realized the analysis and the interpretation of the data

AD realized the first draft of the manuscript

HT, VKN, GT, MT, AS, AJ and SM revised the consecutive drafts

Abstract contains 293 words

Text contains 3499 words

Abstract

Objectives

The long-term outcome of ART-naïve people living with HIV (PLHIV) with baseline CD4 count ≥ 350 is not well described. We aimed to analyze mortality in an ART-naïve West African cohort of PLHIV followed for 18 years according to the effects of CD4 cell count stratum (350-499 versus ≥ 500), HIV serotype and immune activation.

Methods

The cumulative incidences of death in this cohort were calculated using competing risk estimators; treating ART initiation as a competing event for death. To evaluate the effect of baseline CD4 cell counts, HIV serotype and beta 2 microglobulin ($\beta 2m$) level on mortality with the presence of competing event, we used competing risks regression models to calculate the corresponding sub-distribution hazard ratios (sHR) with adjustment for confounding bias.

Results

During 18 years of follow up, the 908 patients realized 5367 clinical visits totaling 2138.1 person-years (PY) of exposure time. A total of 160 deaths was recorded and 67 patients initiated ART; resulting in a mortality incidence rate of 7.5/100 PY. After adjustment, baseline CD4 cell counts between 350 and 499/ μL was associated with a 49% increase in mortality compared to baseline CD4 cell counts $\geq 500/\mu\text{L}$ (adjusted sHR (asHR) = 1.49; 95% CI = 1.07-2.07). HIV serotype was also associated with mortality (the asHR were respectively 1.66 (95% CI = 1.14-2.43) and 2.15 (95% CI = 1.25-3.73) for HIV-1 and HIV-1 + HIV-2 dual infection (HIV-D) compared to HIV-2 infection). Mortality was also associated with $\beta 2m$ level (≥ 2.85 mg/L compared to < 2.85 mg/L) with an asHR = 3.26 (95%CI = 2.03-5.25).

Conclusions

Our study provides a picture of real-life long-term differences in mortality and may contribute to inform the best moment for ART initiation. It also provides some information on HIV-related immune activation in a context of high prevalence of HIV and immune activation.

Key words: ART-naïve, mortality, CD4 cell-stratum, HIV serotype, immune activation

Introduction

In developed countries, cohort analyses have evaluated mortality and morbidity in antiretroviral therapy (ART) naïve people living with HIV (PLHIV) by CD4 cell counts stratum [1-6]. Such data are very scarce in Sub Saharan Africa: the few existing studies are poorly powered due to short durations of follow up or limited sample sizes [7-11] particularly in patients with high CD4 cell count. Therefore, their interpretation is difficult.

The debate on the best moment to initiate ART remains of interest in resource-limited countries (RLC). This is despite the WHO recommendations for universal ART that is every PLHIV should receive ART regardless CD4 cell count and clinical stage [12]. Such recommendations were strongly influenced by the randomized clinical trials (RCT) HPTN 052, START and TEMPRANO [13-15]. These RCTs were globally designed to compare early ART initiation (CD4 cell count $\geq 500/\mu\text{L}$) and deferred ART initiation (CD4 cell count $< 500/\mu\text{L}$ or < 350 or WHO clinical stage 3/4). The modest clinical benefits reported in these studies suggest that treatment regardless of CD4 may not translate into broader public health benefits in RLC for the following reasons. Firstly, previous observational studies reported conflicting results [16-18] in line with a previous systematic review that recommended initiating ART at 350-500 CD4/ μL , not above 500 [19]. Secondly, subsequent studies showed that there was no statistically significant difference in mortality between early ART and deferred ART groups in HPTN 052, START and TEMPRANO. Thirdly, ART is a lifelong treatment whose effectiveness over the long term can be compromised by adherence issues, drug resistance, long-term side effects, and costs: antiretroviral drugs are expensive and require sustainable funding mechanisms. Additional costs in terms of service providers, monitoring tools, additional health infrastructures and their impact on health systems with insufficient resources may be important barriers to the feasibility of universal ART in RLC. The current financial environment poses significant challenges for funding universal treatment and sustaining existing treatment programs. In light of these concerns, observational studies done in “real world” conditions may be a more reliable guide to the impact of treatment guidelines than RCTs, which are conducted in highly resourced settings.

It has also been shown that mortality varied by HIV serotype: HIV-2 infection is associated with lower mortality than HIV-1 infection [20-22] and HIV-1 + HIV-2 dual

infection (HIV-D) [23]. Some studies claim that co-infection with HIV-2 slows the progression of HIV-1 infection while others refute this theory [23-28].

Recent data on the pathogenesis of HIV argue that chronic immune activation is the main factor driving the progression of HIV infection [29]. Despite this fact, it was not sufficiently studied in Sub-Saharan Africa.

Our study aimed to describe mortality in an ART-naïve West African cohort with high baseline CD4 (≥ 350) followed for 18 years. The effects of CD4 cell count stratum (350-499 versus ≥ 500), HIV serotype and immune activation were determined in order to provide a more accurate picture of these long-term differences.

Methods

Study design and population

We conducted a prospective cohort study. Our source population was the Fajara cohort which has been previously described [30, 31]. It was a clinical cohort attached to the genito-urinary medicine unit of the Medical Research Council (MRC) clinic in Banjul, The Gambia which was the HIV national reference center.

Between 1988 and 2010, 4078 patients found to be HIV positive were included in this observational cohort and followed until November 2010. They were included in our analysis if 1) they were aged >16 years, 2) they had a measure of CD4 cell count in a period of three months following their entry in the cohort, 3) the initial CD4 cell counts was $\geq 350/\mu\text{L}$ and 4) duration of follow up was > 0 day.

The study protocol was approved by the institutional ethical and research review boards of the participating institutions in Senegal: (Comité national d'éthique pour la recherche en santé (CNERS) of the Ministry of Health) and in Canada (Research Ethical Board of Sainte-Justine University Hospital, Montreal).

Data collection

After inclusion, patients were invited to attend the clinic at least once every three months, irrespective of symptoms. Those who failed to attend the clinic were visited at home by a fieldworker and were encouraged to return to the clinic. Field workers made quarterly visits up country to capture individuals referred from outside of the greater Banjul area.

During these routine clinic visits including baseline visit, clinical data (weight, height and WHO clinical stage) were collected. Sociodemographic data (age, sex, marital status, education and occupation) were also collected at recruitment (baseline). ART became available from 2004 onwards and start dates for ART were collected during clinical visits. Blood sample was collected at baseline and at according to the physician in the course of follow-up for CD4 count testing. HIV serotype testing was determined for all patients. Blood sample of a subset of patients were biobanked and were used for this analysis for immune activation testing.

HIV serotype testing

The following serological tests were employed to determine HIV sero-status at baseline.

Until August 1996, Wellcozyme HIV 1+2 (Murex Diagnostics Ltd) tests were used. If reactive (positive), samples were re-tested by type specific ELISA (Wellcozyme HIV-1 or HIV-2).

From August 1996, we used the ICEHIV-1.O.2 (Murex) test. If reactive, samples were re-tested using the ICE-HIV-2 test. Samples positive for both HIV sub-types were further tested by Pepti-Lav 1-2 (Sanofi) with a second test completed on a sample taken 2-8 weeks after the initial positive result.

Classic PCR testing of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) was also used to confirm dual infections.

CD4 cell counts quantification

CD4 percentage was estimated by FACScan (Becton-Dickinson, Oxford, UK) until August 1997 and by FACS Calibur (Becton-Dickinson) from September 1997 onwards.

Beta-2-microglobulin measurement (β 2m)

Plasma levels of β 2m were measured using the integrated automated Abbott Architect ci4100 system (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany) in accordance with the instructions of the manufacturer; using Quantia β 2m reagents under calibrated conditions. Thawed plasma samples that were collected in heparinized tubes were used for a single time point assessment. The results are expressed in mg/L of β 2m based on the WHO International Standard [32].

Mortality

Mortality data were collected and updated regularly. The dates of death were extracted from hospital records for patients dying at the MRC hospital, or were obtained through interviews with relatives and neighbors.

Data analysis

The characteristics of the population were described using medians with interquartile ranges (IQR) for continuous variables and using proportions with 95% confidence intervals (CI) for categorical variables. Comparisons of categorical variables were done using Chi² test. The continuous variables were compared between two groups by t-test or Mann Whitney/Wilcoxon test and between three groups by anova or Kruskal Wallis test.

Survival analyses of death were conducted using competing risk estimators. Survival time was the period between the date of entry into the cohort and the date of death or date of ART initiation. For non-deceased individuals, data were censored on the date of last contact. The cumulative incidence of death in this cohort was calculated using competing risk estimators; treating ART initiation as a competing event for death. The comparison of the survival curves between the two strata of CD4 cell counts at baseline (350 – 499 and ≥ 500), the three categories of HIV serotype (HIV-1, HIV-2 and HIV-1 + HIV-2) and the two categories of $\beta 2m$ level (≥ 2.85 mg/L and < 2.85 mg/L) were carried out by examining the overlapping of the confidence bounds of the cumulative incidences of the different categories of interest.

To evaluate the association between baseline CD4 cell counts (bCD4) (350-499 versus ≥ 500) and mortality with the presence of competing event, we used competing risks regression models to calculate the corresponding sub-distribution hazard ratios (sHR). We estimated crude and adjusted sHR with 95% confidence intervals (CI). Confounding was controlled using a 10% change in estimate method (variables that change the estimate by $\geq |10\%|$ were included in the model) among the following potential confounders: age (16-24/25-30/31-38/39-76), sex (male vs female), education level (absence/elementary/high school/university), occupation (absence/informal/employee/executive), inclusion period (1992-2004/2005-2010), WHO clinical stage (stages 1-2/stages 3-4), HIV serotype (HIV-1/HIV-2/HIV-1+HIV-2) and CD4 cell counts during follow up (fCD4) which was treated as time-dependant variable. Age, sex and inclusion period were tested as effect modifiers. The association between mortality

and HIV serotype (HIV-1/HIV-2/HIV-1+HIV-2) and β 2m level (≥ 2.85 / < 2.85) were assessed using the same methodology and considering the same potential confounders. HIV serotype was also tested as effect modifier for the association between mortality and β 2m level.

In order to compare our results, Kaplan Meier method and Cox proportional models (censuring PLHIV at ART initiation) were also used to estimate survival time and compute hazard ratios (HR).

Results

The study population included 908 PLHIV recruited in 1992-2010 totaling 5367 clinical visits, resulting in 2138.1 person-years (PY) of exposure time. The mean number of visits was 6 (range = 1-51) and the average duration of follow up was 2.5 years (standard deviation (SD) = 3.3). Table 1 presents their baseline characteristics. The majority were female (75.0%) and ages varied from 16 to 79 years (mean = 33 ± 11 years). The predominant HIV serotype was HIV-1 (73.5%) with 52 people (5.7%) dually infected by HIV-1 and HIV-2 (HIV-D). The socioeconomic level was low: 51.7% had no education and 50.5% had no occupation at their entry into the cohort; only 14.7% and 3.3% had university level of education or were public or private sector executives, respectively.

Table 1. Baseline characteristics of the study population

Characteristics	Whole study population		Study population with a dosage of β_2m	
	N	Median (IQR ^a) or %	N	Median (IQR ^a) or %
Age (years)	907	31 (25 – 40)	262	30 (25 – 37)
Sex	908		263	
Male	227	25.0	74	28.1
Female	681	75.0	189	71.9
Baseline CD4 counts (cells/μL)	908	550 (440 – 760)	263	600 (450 -830)
< 500	353	38.9	91	34.6
\geq 500	555	61.1	172	65.4
HIV serotype	908		263	
HIV-1	667	73.5	149	56.7
HIV-2	189	20.8	95	36.1
HIV-1 + HIV-2	52	5.7	19	7.2
β_2m level (mg/L)			263	2.85 (2.2 – 3.9)
Education level	450		23	
No education	233	51.8	9	39.1
Elementary	54	12.0	0	0
High school	97	21.6	11	47.8
University	66	14.7	3	13.1
Profession	425		21	
No current occupation	215	50.6	4	19.1
Informal work	149	35.1	3	61.9
Other public or private sector employee	47	11.1	14	19.0
Public or private sector executive	14	3.3	0	0
WHO clinical stage	194		39	
1 or 2	165	85	30	76.9
3 or 4	29	15	9	23.1
Inclusion period	914		263	
1992 – 2004	679	74.3	263	100
2005 - 2010	235	25.7	0	0

^aInterquartile range

The cumulative incidences of death and 95% CI are represented in figure 1.

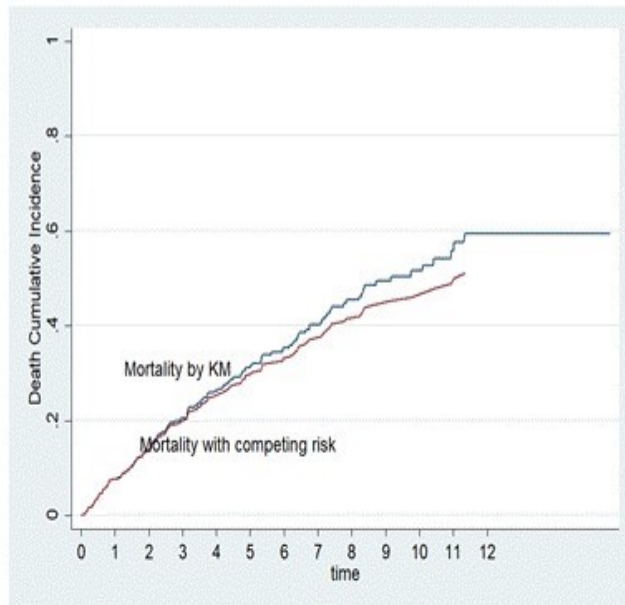


Fig 1.1 Cumulative incidences by KM and competing risks methods

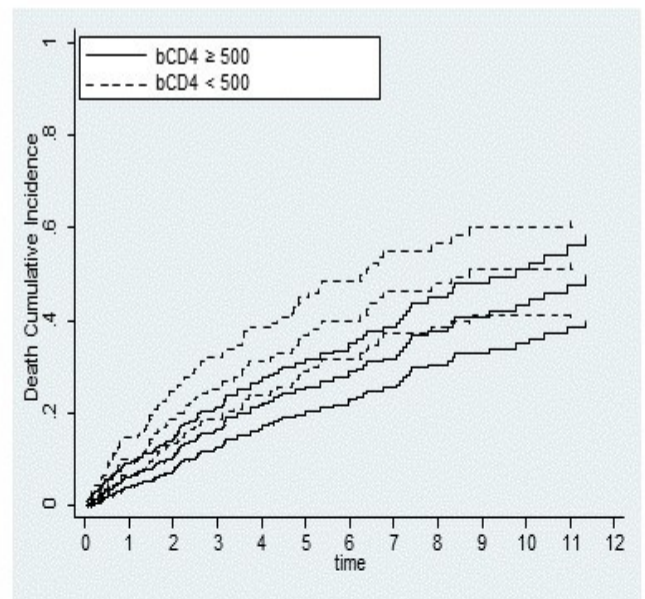


Fig 1.2 Cumulative incidences with 95% CI by CD4 cell counts stratum

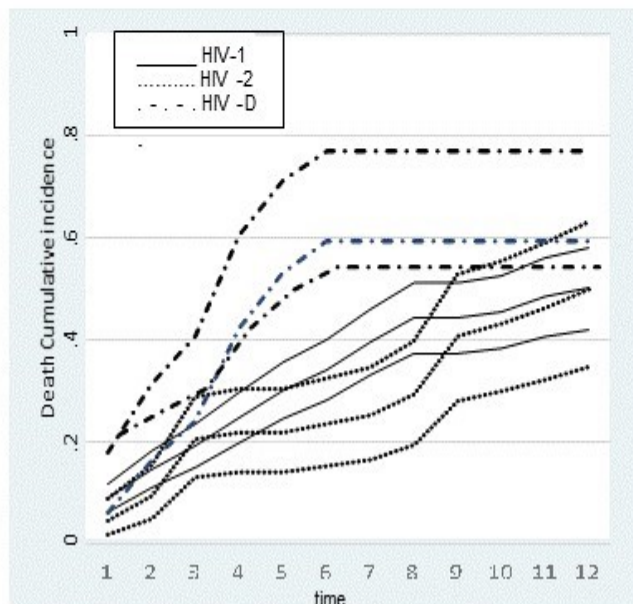


Fig 1.3 Cumulative incidences with 95% CI by HIV serotype

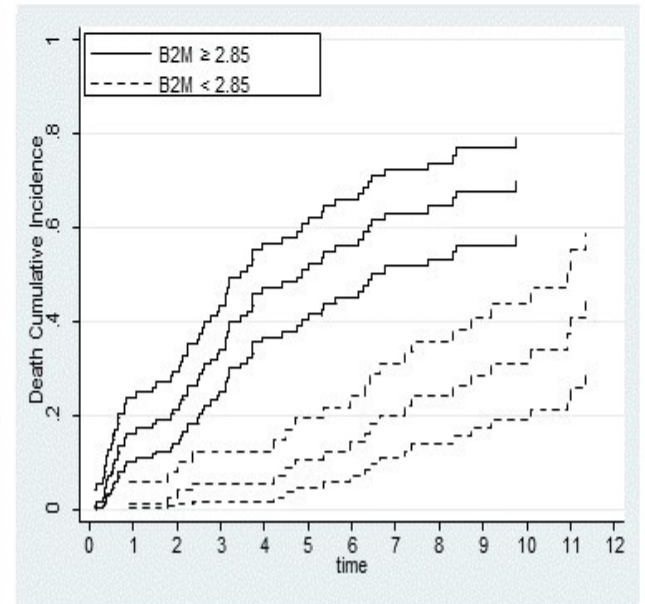


Fig 1.4 Cumulative incidences with 95% CI by baseline B2M level

Figure 1. Cumulative incidences by competing risks estimation methods.

Fig 1.1 represents the cumulative incidences of death calculated by two methods: Kaplan Meier (blue) and competing risks estimations (red)

Fig 1.2 represents the cumulative incidences of death calculated by competing risks estimations by CD4 cell counts stratum: ≥ 500 and < 500

Fig 1.3 represents the cumulative incidences of death calculated by competing risks estimations by HIV serotype: HIV-1, HIV-2 and HIV-dual

Fig 1.4 represents the cumulative incidences of death calculated by competing risks estimations by B2M level: ≥ 2.85 mg/L and < 2.85 mg/L

The cumulative incidence of death was 51.1% (95% CI = 44.0%-57.8%). The cumulative incidences at one year, two years, five years and ten years were 7.6% (95% CI = 5.6%-10.0%), 13.4% (95% CI = 10.6%-16.6%), 29.5% (95% CI = 24.9%-34.2%) and 46.1% (95% CI = 39.8%-52.1%), respectively (Fig 1.1). A total of 160 deaths were recorded and 67 patients initiated ART; resulting in an incidence rate of 7.5/100 person-years (PY).

The cumulative incidence was 49.6% (95% CI = 40.0%-58.4%) in the stratum “CD4 \geq 500”) and 53.5% (95% CI = 42.8%-62.9%) in the stratum “350-499”) (Fig 1.2). The crude and adjusted sHR of the effect of bCD4 stratum are summarized in table 2. After adjustment on age, sex and fCD4, bCD4 of 350-499/ μ L was associated with a 49% increase risk of death compared with baseline CD4 \geq 500/ μ L (asHR = 1.49; 95% CI = 1.07-2.07). This effect was not modified by the following variables: age (p = 0.596), sex (p = 0.808), inclusion period (p = 0.747) (data not shown). Classical Cox regression model showed similar results.

Table 2. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of baseline CD4 cell counts stratum on mortality

	Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a				Cox regression model			
	Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)		Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)	
bCD4 ^b	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value
≥ 500/μL	1		1		1		1	
< 500/μL	1.40 [1.02 – 1.91]	0.035	1.49 [1.07 – 2.07]	0.017	1.63 [1.19 – 2.23]	0.002	1.44 [1.03 – 2.02]	0.033

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

^bbaseline CD4 cell count

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex and fCD4

Death cumulative incidence at one year was 8.8% (95% CI = 6.3-11.8) among HIV-1 patients and 29.9% (95% CI = 24.4-35.7) after five years of follow up. In HIV-2 patients, cumulative incidence at one year and five years were 4.4% (95% CI = 1.8-8.9) and 21.6% (95% CI = 14.1-30.3), respectively. Cumulative incidences were 6.2% (95% CI = 1.1-17.9) and 53.2% (95% CI = 30.9-71.2) for HIV-D patients (Fig 1.3). Table 3 presents the univariable and multivariable analysis of the association between HIV serotype and mortality. The sHR were adjusted on age, sex, education level and inclusion period. Comparing HIV-2 infection, HIV-1 and HIV-D infection were associated with a higher risk of death: the respective asHR were 1.66 (95% CI = 1.14-2.43) and 2.15 (95% CI = 1.25-3.73). The risk of death was not statistically different between HIV-D infected patients and HIV-1 mono infected patients: asHR = 1.36 (95% CI = 0.84-2.21). Similar results were obtained using classic Cox regression.

Table 3. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of HIV serotype on mortality

Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a					Cox regression model			
		Univariate analysis (N = 908)			Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)	
HIV serotype	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value
HIV-2	1		1		1		1	
HIV-1	1.24 [0.85 – 1.80]	0.267	1.66 [1.26 – 2.81]	0.008	1.45 [0.98 - 2.13]	0.061	1.80 [1.21 – 2.68]	0.004
HIV- D	1.88 [1.02 – 3.44]	0.041	2.15 [1.24 – 3.73]	0.006	2.05 [1.10 – 3.84]	0.025	2.23 [1.18 – 4.22]	0.013

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, education level and inclusion period

The effect of beta 2 microglobulin (β_2m) on mortality was evaluated in a subpopulation of 263 individuals. The characteristics of patients included for the analysis of β_2m are summarized in table 1. The β_2m level was dichotomized with the median value as the cut-off point: ≥ 2.85 mg/L or < 2.85 mg/L. Cumulative incidence of death varied with the level of β_2m : after ten years, the cumulative incidence of death was 51.0% (95% CI = 40.2-60.7) in case of baseline β_2m level ≥ 2.85 and 10.6% (95% CI = 4.6-19.5) in case of baseline β_2m level < 2.85 (Fig 1.4). Crude and adjusted sHR and 95% CI for the association between $\beta_2m \geq 2.85$ mg/L and mortality are presented in table 4. After adjustment on age and sex, Plasma β_2m was associated with mortality. PLHIV who presented with baseline $\beta_2m \geq 2.85$ mg/L had more than three times higher mortality than people who presented with baseline $\beta_2m < 2.85$ mg/L: asHR = 3.26 (95%CI = 2.03-5.25). The association was similar for HIV-1 infection (asHR = 3.31; 95%CI = 1.77-6.20) and HIV-2 infection (asHR = 3.22; 95%CI = 1.37-7.55) as well as for HR obtained with classic proportional hazard model.

Table 4. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of β 2m level on mortality

Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a					Cox regression model			
Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)			Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)	
β 2m level	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value
< 2.85 mg/L	1		1		1		1	
\geq 2.85 mg/L	3.48 [2.18 – 5.54]	< 0.001	3.23 [2.01 – 5.19]	< 0.001	3.53 [2.15 – 5.83]	< 0.001	3.39 [2.16 – 5.31]	< 0.001

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age and sex

Discussion

We conducted a prospective cohort study on a population of 908 ART-naïve Gambian PLHIV followed between 1992 and 2010 with an average exposure time of 2.3 years. We described pre-ART mortality and estimated the association of bCD4, HIV serotype and β_2m level using competing risks estimation methods.

After adjustment, mortality was influenced by CD4 stratum, HIV serotype and β_2m level.

In this study, we recruited and followed a significant ART-naïve population over two decades. Our observational cohort reflects the real-life conditions in Sub-Saharan Africa over secular time, offering a powerful basis for generalizability across different contexts. However, our study presents some limitations: potential confounders such as body mass index (BMI), haemoglobin level and viral load were not collected although their roles in mortality were not unanimously recognized [31, 33]. The effect of β_2m level was evaluated in a subpopulation of the cohort with a possibility of selection bias. However, the selection of this subpopulation preceded the event and was not related to any of our exposure variables, minimizing a possibility of such bias. Moreover, a significant proportion were lost to follow up. In sensitivity analyses, if we considered all those lost to follow up as deceased, the effects of our exposure variables were underestimated (toward the null), while considering them all as alive did not significantly change the associations (data not shown). It is more likely that the lost to follow-up remained alive for several reasons. Firstly, they were younger, were more frequently working, had a higher level of education and were more frequently infected by HIV-2. Secondly, the procedures of the study described in the methods were very effective to report deaths even if they occurred out of hospital. Thirdly, the existence of alternative therapeutic options (traditional medicine and then ART programs in surrounding countries) was considered the main reason of lost to follow up.

Our mortality rate was similar to those found in Sub-Saharan Africa although some authors reported lower values related to the differences in methods of survival analysis [7 – 11, 20]. However, the exposure times in these studies were relatively short. In developed countries, mortality among ART naïve PLHIV is lower than what has been found in our cohort: it was lower than 0.7/100 PY in the stratum “350-499” and lower than 0.5/100 PY in the stratum “ ≥ 500 ” [1, 2]. In EuroSIDA, the mortality rate was 1.4/100 PY in a population

with ≥ 350 CD4/ μ L while in CASCADE, cumulative incidences were 10% and 44% at five years and ten years after seroconversion, respectively [3, 6].

After adjustment, our study found a 49% increase in mortality in the stratum of baseline CD4 350-499 compared with the stratum CD4 ≥ 500 . A difference in mortality by CD4 cell count stratum was previously reported in one study [16] but not in others [13, 18, 34-36]. Importantly, these studies used a different methodology, considering the time spent in a specific CD4 cell count stratum instead of baseline CD4 cell count only. These studies have contributed to the debate on the best moment to initiate ART without bringing about a clear consensus. A systematic review including 24 studies with three RCT was in favour of initiating ART at 350-500 CD4/ μ L [19] and supported the WHO guidelines for ART initiation issued in 2013 [37]. In 2015, the results of two major RCTs confirmed those of HPTN 052 and recommended initiation of ART regardless CD4 cell count and clinical stage [12]. In these RCTs, a composite measure of the primary endpoint was death, AIDS event or serious non-AIDS event. The authors argued there was a clinical benefit from early initiation of ART, although the differences in mortality were not statistically significant [13-15].

One major limitation of RCTs is external validity: this is particularly the case for HPTN 052 which was conducted in a population of serodiscordant couples (SDC). The PLHIV in SDC are known to have an important social support and a high risk perception that might contribute to good adherence and good results [38-40]. More generally, international RCTs are conducted under optimal conditions that do not reflect those found in real-life: additional technical, financial and social supports are given in order to maximize adherence. This may explain in part the low number of events and deaths in these trials, and their inability to show statistically significant differences in mortality. In Sub Saharan Africa, it is usually through RCTs or other clinical research settings that it is possible to obtain frequent measures of CD4 cell count, and even viral load among ART-naïve PLHIV. Significant loss to follow up has already been reported in these PLHIV and it is important to take into account this parameter [41-44]. For these reasons, real-life data are necessary to support the results of RCTs: this is crucial to convince decision-makers that results of RCTs can be reproduced in resource-poor settings and even scaled up.

In this analysis, based on real-life data, we showed that ART initiation at CD4 cell count ≥ 500 would reduce mortality compared to initiating at a CD4 cell count of 350-499. We

have chosen to consider baseline CD4 cell count as the main exposure variable and to adjust for CD4 cell count measurements during follow up. The first visit and baseline CD4 cell count determine future clinical management of PLHIV in Sub Saharan Africa. Before ART initiation, consecutive visits usually depend on the wellbeing of the patient and are often irregular. Our study offers insight into the natural history of HIV in ART-naïve patients in Sub Saharan Africa under real-world conditions.

Our observation that mortality was higher in HIV-1 and HIV-D infected than in HIV-2 infected patients has previously been reported [20-23]. HIV-2 is less virulent with a slower progression than HIV-1. The underlying mechanisms are not fully understood yet but some authors linked it to the virus-cell interactions during surface envelope Glycoprotein engagement of cell receptors, the difference in the humoral response or genomic differences [45-48]. We found that mortality of HIV-D patients were higher than that of HIV-1 patients but the difference was not statistically significant as it was the case of the majority of previous studies [23, 25, 27]. This is in contradiction with the results of Esbjörnsson J et al who reported an inhibition of HIV-1 disease progression by contemporaneous HIV-2 infection and a lower mortality in HIV-D patients [26, 28]. It was important to produce valid estimations of mortality by HIV serotype in West Africa where both viruses remain endemic.

Through this study, we also found that the plasmatic level of β_2m was strongly associated with death, similarly in HIV-1 and HIV-2 infected patients. The role of IA in HIV disease progression and death was previously reported by studies from different contexts [31, 49-55]. However, these studies were cross-sectional, of short duration or mainly concerned PLHIV in advanced disease stages. Two studies conducted in Rwanda and Zambia did not find a role of β_2m in mortality of HIV patients [56-57]. Our study confirmed the role of IA in HIV-1 and HIV-2 disease progression and mortality even in PLHIV with high CD4 cell count and followed for 18 years. There is little data examining these relationships in the context of high prevalence of both IA and HIV infection. In addition to HIV disease progression, IA has been recognized as the main risk factor for non-AIDS related morbidity and mortality in PLHIV even under effective ART [29, 58-60]. As a result, IA has become a therapeutic target and specific therapies are being developed [29, 61]. Our study can contribute to inform the best usage of such therapies in Sub Saharan Africa. Moreover, we used β_2m as soluble marker of IA. β_2m has already been shown to be suitable marker for a general IA in HIV infection

and is stable for long-term storage of plasma samples and freeze-thawing [62]. This low cost and easily quantifiable marker has a public health interest in contrast with cellular markers which are usually preferred in research contexts.

Conclusions

In this observational cohort of ART-naïve Gambian PLHIV followed during two decades, we demonstrated that mortality was higher in those with baseline CD4 cell count of 350-499 compared to those with a baseline CD4 ≥ 500 . We confirmed that mortality is lower in HIV-2 infection than in HIV-1 and HIV-D infections with no argument of the inhibition of HIV-1 progression by HIV-2 coinfection. Using a soluble marker of IA with potential public health interest, we found a strong and durable association between $\beta 2m$ and mortality. These data are scarce in Sub Saharan Africa and provide a picture of real-life long-term differences in mortality. They may contribute to inform the best moment for ART initiation and the management of HIV related IA in a context of high prevalence of HIV and IA.

Acknowledgements

The authors acknowledge all the members of the WAPHIR, the biologists and the lab technicians of the MRCG, the research assistant of Sainte Justine Research Center (Louise Laporte), the laboratory of Pasteur Institute in Dakar (Dr Raymond Bercion and Mr Khadim Dramé).

Funding

This work is part of a PhD program (epidemiology) that was funded by the West African Platform for HIV Intervention Research (WAPHIR) and the GHRI/IDRC (Global Health Research Institute/International Development Research Centre, Canada and Medical Research Council The Gambia (MRCG).

AD benefitted scholarships from the WAPHIR, the Graduate Institute of International and Development Studies and the “Faculté des Etudes Supérieures et Post Doctorales (FESP)” of Université de Montréal.

HT holds a salary award (chercheur-boursier) from the Fonds de la recherche du Québec en santé (FRQ-S) and from Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (New investigator salary award).

References

1. Study Group on Death Rates at High CD4 Count in Antiretroviral Naive Patients, Lodwick RK, Sabin CA, Porter K, Ledergerber B, van Sighem A, Cozzi-Lepri A, et al. Death rates in HIV-positive antiretroviral-naive patients with CD4 count greater than 350 cells per microL in Europe and North America: a pooled cohort observational study. *Lancet*. 2010 Jul 31;376(9738):340-5.
2. Phillips AN, Gazzard B, Gilson R, Easterbrook P, Johnson M, Walsh J, et al; UK Collaborative HIV Cohort Study. Rate of AIDS diseases or death in HIV-infected antiretroviral therapy-naïve individuals with high CD4 cell count. *AIDS*. 2007 Aug 20;21(13):1717-21.
3. Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, Kirk O, Reiss P, d'ArminioMonforte A, et al ; EuroSIDA study group. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet*. 2003 Jul 5;362(9377):22-9.
4. Mocroft A, Katlama C, Johnson AM, Pradier C, Antunes F, Mulcahy F, et al. AIDS across Europe, 1994-98: the EuroSIDA study. *Lancet*. 2000 Jul 22;356(9226):291-6.
5. Phillips A, Pezzotti P; CASCADE Collaboration. Short-term risk of AIDS according to current CD4 cell count and viral load in antiretroviral drug-naïve individuals and those treated in the monotherapy era. *AIDS*. 2004 Jan 2;18(1):51-8.
6. Smit C, Gekus R, Walker S, Sabin C, Coutinho R, Porter K, Prins M; CASCADE Collaboration. Effective therapy has altered the spectrum of cause-specific mortality following HIV seroconversion. *AIDS*. 2006 Mar 21;20(5):741-9.
7. Badri M, Lawn SD, Wood R. Short-term risk of AIDS or death in people infected with HIV-1 before antiretroviral therapy in South Africa: a longitudinal study. *Lancet*. 2006 Oct 7;368(9543):1254-9.
8. Hargrove JW, Humphrey JH; ZVITAMBO Study Group. Mortality among HIV-positive postpartum women with high CD4 cell counts in Zimbabwe. *AIDS*. 2010 Jan 28;24(3):F11-4.
9. Masiira B, Baisley K, Mayanja BN, Kazooba P, Maher D, Kaleebu P. Mortality and its predictors among antiretroviral therapy naïve HIV-infected individuals with CD4 cell

- count ≥ 350 cells/mm³ compared to the general population: data from a population-based prospective HIV cohort in Uganda. *Glob Health Action*. 2014 Jan 15;7:21843.
10. Anglaret X, Minga A, Gabillard D, Ouassa T, Messou E, Morris B, et al; ANRS 12222 Morbidity/Mortality Study Group. AIDS and non-AIDS morbidity and mortality across the spectrum of CD4 cell counts in HIV-infected adults before starting antiretroviral therapy in Cote d'Ivoire. *Clin Infect Dis*. 2012 Mar 1;54(5):714-23.
 11. Lewden C, Gabillard D, Minga A, Ekouévi DK, Avit D, Konate I, et al; ANRS 12222 Morbidity Mortality Study Group. CD4-specific mortality rates among HIV-infected adults with high CD4 counts and no antiretroviral treatment in West Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012 Feb 1;59(2):213-9.
 12. World Health Organization. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection, recommendations for a public health approach, Second edition. WHO 2016.
 13. Grinsztejn B, Hosseinipour MC, Ribaud HJ, Swindells S, Eron J, Chen YQ, Wang L, et al. Effects of early versus delayed initiation of antiretroviral treatment on clinical outcomes of HIV-1 infection: results from the phase 3 HPTN 052 randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. 2014 Apr;14(4):281-90.
 14. INSIGHT START Study Group, Lundgren JD, Babiker AG, Gordin F, Emery S, Grund B, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med*. 2015 Aug 27;373(9):795-807.
 15. TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, Danel C, Moh R, Gabillard D, Badje A, Le Carrou J, et al. A Trial of Early Antiretrovirals and Isoniazid Preventive Therapy in Africa. *N Engl J Med*. 2015 Aug 27;373(9):808-22.
 16. Kitahata MM, Gange SJ, Abraham AG, Merriman B, Saag MS, Justice AC, et al. Effect of early versus deferred antiretroviral therapy for HIV on survival. *N Engl J Med*. 2009 Apr 30;360(18):1815-26.
 17. Guiguet M, Porter K, Phillips A, Costagliola D, Babiker A. Clinical progression rates by CD4 cell category before and after the initiation of combination antiretroviral therapy (cART). *Open AIDS J*. 2008;2:3-9.
 18. HIV-CAUSAL Collaboration, Cain LE, Logan R, Robins JM, Sterne JA, Sabin C, et al. When to initiate combined antiretroviral therapy to reduce mortality and AIDS-defining

- illness in HIV-infected persons in developed countries: an observational study. *Ann Intern Med.* 2011 Apr 19;154(8):509-15.
19. Anglemyer A, Rutherford GW, Easterbrook PJ, Horvath T, Vitória M, Jan M, et al. Early initiation of antiretroviral therapy in HIV-infected adults and adolescents: a systematic review. *AIDS.* 2014 Mar;28 Suppl 2:S105-18.
 20. Hansmann A, Schim van der Loeff MF, Kaye S, Awasana AA, Sarge-Njie R, O'Donovan D, et al. Baseline plasma viral load and CD4 cell percentage predict survival in HIV-1- and HIV-2-infected women in a community-based cohort in The Gambia. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005 Mar 1;38(3):335-41.
 21. Poulsen AG, Aaby P, Larsen O, Jensen H, Naclér A, Lisse IM, et al. 9-year HIV-2-associated mortality in an urban community in Bissau, west Africa. *Lancet.* 1997 Mar 29;349(9056):911-4.
 22. Berry N, Jaffar S, Schim van der Loeff M, Ariyoshi K, Harding E, N'Gom PT, et al. Low level viremia and high CD4% predict normal survival in a cohort of HIV type-2-infected villagers. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2002 Nov 1;18(16):1167-73.
 23. Alabi AS, Jaffar S, Ariyoshi K, Blanchard T, Schim van der Loeff M, Awasana AA, et al. Plasma viral load, CD4 cell percentage, HLA and survival of HIV-1, HIV-2, and dually infected Gambian patients. *AIDS.* 2003 Jul 4;17(10):1513-20.
 24. Månsson F, Biague A, da Silva ZJ, Dias F, Nilsson LA, Andersson S, et al. Prevalence and incidence of HIV-1 and HIV-2 before, during and after a civil war in an occupational cohort in Guinea-Bissau, West Africa. *AIDS.* 2009 Jul 31;23(12):1575-82.
 25. Holmgren B, da Silva Z, Vastrup P, Larsen O, Andersson S, Ravn H, et al. Mortality associated with HIV-1, HIV-2, and HTLV-I single and dual infections in a middle-aged and older population in Guinea-Bissau. *Retrovirology.* 2007 Nov 27;4:85.
 26. Esbjörnsson J, Månsson F, Kvist A, Isberg PE, Nowroozalizadeh S, Biague AJ, et al. Inhibition of HIV-1 disease progression by contemporaneous HIV-2 infection. *N Engl J Med.* 2012 Jul 19;367(3):224-32.
 27. Prince PD, Matser A, van Tienen C, Whittle HC, Schim van der Loeff MF. Mortality rates in people dually infected with HIV-1/2 and those infected with either HIV-1 or HIV-2: a systematic review and meta-analysis. *AIDS.* 2014 Feb 20;28(4):549-58.

28. Esbjörnsson J, Månsson F, Kvist A, Isberg PE, Nowroozalizadeh S, Biague AJ, et al. Effect of HIV-2 infection on HIV-1 disease progression and mortality. *AIDS*. 2014 Feb 20;28(4):614-5.
29. Miedema F, Hazenberg MD, Tesselaar K, van Baarle D, de Boer RJ, Borghans JA. Immune Activation and Collateral Damage in AIDS Pathogenesis. *Front Immunol*. 2013 Sep 26;4:298.
30. Schim van der Loef MF, Jaffar S, Aveika AA, Sabally S, Corrah T, Harding E, et al. Mortality of HIV-1, HIV-2 and HIV-1/HIV02 dually infected patients in a clinic-based cohort in The Gambia. *AIDS*. 2002; 16: 1775-83.
31. Nyamweya S, Townend J, Zaman A, Steele SJ, Jeffries D, Rowland-Jones S, et al. Are plasma biomarkers of immune activation predictive of HIV progression: a longitudinal comparison and analyses in HIV-1 and HIV-2 infections? *PLoS One*. 2012;7(9):e44411.
32. WHO International Laboratory for Biological Standards. The International Standard for beta 2 microglobulin. WHO, Medicine and Healthcare Products Regulatory Agency, 1996.
33. Lawn SD, Harries AD, Anglaret X, Myer L, Wood R. Early mortality among adults accessing antiretroviral treatment programmes in sub-Saharan Africa. *AIDS*. 2008 Oct 1;22(15):1897-908.
34. Writing Committee for the CASCADE Collaboration. Timing of HAART initiation and clinical outcomes in human immunodeficiency virus type 1 seroconverters. *Arch Intern Med*. 2011 Sep 26;171(17):1560-9.
35. When To Start Consortium, Sterne JA, May M, Costagliola D, de Wolf F, Phillips AN, et al. Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies. *Lancet*. 2009 Apr 18;373(9672):1352-63.
36. Palella FJ Jr, Deloria-Knoll M, Chmiel JS, Moorman AC, Wood KC, Greenberg AE, et al. Survival benefit of initiating antiretroviral therapy in HIV-infected persons in different CD4+ cell strata. *Ann Intern Med*. 2003 Apr 15;138(8):620-6.
37. World Health Organization. Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection: Recommendations for a Public Health Approach. Geneva: World Health Organization; 2013 Jun.

38. Goldenberg T, Stephenson R. "The more support you have the better": partner support and dyadic HIV care across the continuum for gay and bisexual men. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015 May 1;69 Suppl 1:S73-9.
39. Ware NC, Pisarski EE, Haberer JE, Wyatt MA, Tumwesigye E, Baeten JM, et al. Lay Social Resources for Support of Adherence to Antiretroviral Prophylaxis for HIV Prevention Among Serodiscordant Couples in sub-Saharan Africa: A Qualitative Study. *AIDS Behav*. 2015 May;19(5):811-20.
40. Sidibe S, Pack AP, Tolley EE, Ryan E, Mackenzie C, Bockh E, et al. Communicating about microbicides with women in mind: tailoring messages for specific audiences. *J Int AIDS Soc*. 2014 Sep 8;17(3 Suppl 2):19151.
41. Togun T, Peterson I, Jaffar S, Oko F, Okomo U, Peterson K, et al. Pre-treatment mortality and loss-to-follow-up in HIV-1, HIV-2 and HIV-1/HIV-2 dually infected patients eligible for antiretroviral therapy in The Gambia, West Africa. *AIDS Res Ther*. 2011 Jul 20;8(1):24.
42. Bassett IV, Wang B, Chetty S, Mazibuko M, Bearnot B, Giddy J, et al. Loss to care and death before antiretroviral therapy in Durban, South Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Jun 1;51(2):135-9.
43. McGrath N, Glynn JR, Saul J, Kranzer K, Jahn A, Mwaungulu F, et al. What happens to ART-eligible patients who do not start ART? Dropout between screening and ART initiation: a cohort study in Karonga, Malawi. *BMC Public Health*. 2010 Oct 12;10:601.
44. Amuron B, Namara G, Birungi J, Nabiryo C, Levin J, Grosskurth H, et al. Mortality and loss-to-follow-up during the pre-treatment period in an antiretroviral therapy programme under normal health service conditions in Uganda. *BMC Public Health*. 2009 Aug 11;9:290.
45. Azevedo-Pereira JM, Santos-Costa Q. HIV Interaction With Human Host: HIV-2 As a Model of a Less Virulent Infection. *AIDS Rev*. 2016 Jan-Mar;18(1):44-53.
46. Makvandi-Nejad S, Rowland-Jones S. How does the humoral response to HIV-2 infection differ from HIV-1 and can this explain the distinct natural history of infection with these two human retroviruses? *Immunol Lett*. 2015 Jan;163(1):69-75.

47. Devadas K, Biswas S, Haleygurisetty M, Ragupathy V, Wang X, Lee S, et al. Identification of Host Micro RNAs That Differentiate HIV-1 and HIV-2 Infection Using Genome Expression Profiling Techniques. *Viruses*. 2016 May 2;8(5). pii: E121.
48. Yamaguchi J, Brennan CA, Alessandri-Gradt E, Plantier JC, Cloherty GA, Berg MG. HIV-2 Surveillance with Next-Generation Sequencing Reveals Mutations in a Cytotoxic Lymphocyte-Restricted Epitope Involved in Long-Term Nonprogression. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2017 Apr;33(4):347-352.
49. Sousa AE, Carneiro J, Meier-Schellersheim M, Grossman Z, Victorino RM. CD4 T cell depletion is linked directly to immune activation in the pathogenesis of HIV-1 and HIV-2 but only indirectly to the viral load. *J Immunol*. 2002 Sep 15;169(6):3400-6.
50. Fahey JL, Taylor JM, Detels R, Hofmann B, Melmed R, Nishanian P, et al. The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med*. 1990 Jan 18;322(3):166-72.
51. Ullum H, Lepri AC, Katzenstein TL, Phillips AN, Skinhøj P, Gerstoft J, et al. Prognostic value of single measurements of beta-2-microglobulin, immunoglobulin A in HIV disease after controlling for CD4 lymphocyte counts and plasma HIV RNA levels. *Scand J Infect Dis*. 2000;32(4):371-6.
52. Liu Z, Cumberland WG, Hultin LE, Prince HE, Detels R, Giorgi JV. Elevated CD38 antigen expression on CD8⁺ T cells is a stronger marker for the risk of chronic HIV disease progression to AIDS and death in the Multicenter AIDS Cohort Study than CD4⁺ cell count, soluble immune activation markers, or combinations of HLA-DR and CD38 expression. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997 Oct 1;16(2):83-92.
53. Ostrowski SR, Gerstoft J, Pedersen BK, Ullum H. A low level of CD4⁺CD28⁺ T cells is an independent predictor of high mortality in human immunodeficiency virus type 1-infected patients. *J Infect Dis*. 2003 Jun 1;187(11):1726-34.
54. Michel P, Balde AT, Roussillon C, Aribot G, Sarthou JL, Gougeon ML. Reduced immune activation and T cell apoptosis in human immunodeficiency virus type 2 compared with type 1: correlation of T cell apoptosis with beta2 microglobulin concentration and disease evolution. *J Infect Dis*. 2000 Jan;181(1):64-75.

55. Jaffar S, Van der Loeff MS, Eugen-Olsen J, Vincent T, Sarje-Njie R, Ngom P, et al. Immunological predictors of survival in HIV type 2-infected rural villagers in Guinea-Bissau. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005 Jun;21(6):560-4.
56. Kerlikowske KM, Katz MH, Allen S, Wolf W, Hudes ES, Karita E, et al. Beta 2-microglobulin as a predictor of death in HIV-infected women from Kigali, Rwanda. *AIDS*. 1994 Jul;8(7):963-9.
57. Hosp M, Lisse IM, Quigley M, Mwinga AM, Godfrey-Faussett P, Porter JD, et al. An evaluation of low-cost progression markers in HIV-1 seropositive Zambians. *HIV Med*. 2000 Mar;1(2):125-7.
58. McComsey GA, Kitch D, Sax PE, Tierney C, Jahed NC, Melbourne K et al. Associations of Inflammatory Markers With AIDS and Non-AIDS Clinical Events After Initiation of Antiretroviral Therapy: AIDS Clinical Trials Group A5224s, a Substudy of ACTG A5202. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014 Feb 1; 65(2): 167–174.
59. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, Asher TE, Silvestri G, Rao S, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med*. 2006 Dec;12(12):1365-71.
60. Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, et al; INSIGHT SMART Study Group. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med*. 2008 Oct 21;5(10):e203.
61. Hsu DC, Sereti I. Serious Non-AIDS Events: Therapeutic Targets of Immune Activation and Chronic Inflammation in HIV Infection. *Drugs*. 2016 Apr;76(5):533-49.
62. Aziz N, Nishanian P, Taylor JM, et al. Stability of plasma levels of cytokines and soluble activation markers in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1999;179:843-8.

Supplementary results

Table 5. Baseline characteristics of lost to follow up compared to the rest of the population

Characteristics	Lost to follow up		Not lost to follow up		p-value
	N	Mean (SD ^a) or %	N	Mean (SD ^a) or %	
Age (years)	281	30.3 (8.8)	626	34.1 (11.2)	< 0.001
Sex	282		626		0.214
Male	63	22.3	164	26.2	
Female	219	77.7	462	73.8	
CD4 counts (cells/μL)	282		626		0.116
< 500	181	64.2	374	59.7	
≥ 500	101	35.8	252	40.3	
HIV serotype	282		626		< 0.001
HIV-1	186	65.9	481	76.8	
HIV-2	81	28.7	108	17.2	
HIV-1 + HIV-2	15	5.3	37	5.9	
β₂m level (mg/L)	123	3.1 (1.9)	140	3.7 (2.1)	0.017
Education level	109		340		< 0.001
No education	33	30.3	199	58.5	
Elementary	26	23.8	28	8.2	
High school	30	27.5	67	19.7	
University	20	18.4	46	13.5	
Profession	99		325		0.006
No current occupation	35	35.4	179	55.1	
Informal work	47	47.5	102	31.4	
Other public or private sector employee	14	14.1	33	10.1	
Public or private sector executive	3	3.0	11	3.4	
WHO clinical stage	86		108		0.202
1 or 2	70	81.4	95	88.0	
3 or 4	16	18.6	13	12.0	

^aStandard deviation

Table 6. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of CD4 cell counts on mortality considering lost to follow up as alive

Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a					Cox regression model				
Univariate analysis (N = 908)			Multivariate analysis* (N = 907)		Univariate analysis (N = 908)			Multivariate analysis* (N = 907)	
bCD4 ^b	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value	
≥ 500/μL	1		1		1		1		
< 500/μL	1.49 [1.02 – 2.17]	0.038	1.63 [1.10 – 2.41]	0.015	1.45 [1.06 – 1.98]	0.020	1.40 [1.01 – 1.95]	0.045	

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

^bbaseline CD4 cell count

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex and fCD4

Table 7. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of HIV serotype on mortality considering lost to follow up as alive

HIV serotype	Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a				Cox regression model			
	Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)		Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)	
	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value
HIV-2	1		1		1		1	
HIV-1	1.25 [0.86 – 1.83]	0.242	1.78 [1.21 – 2.61]	0.003	1.34 [0.91 - 1.97]	0.136	1.84 [1.24 – 2.74]	0.003
HIV- D	1.90 [1.03 – 3.52]	0.040	2.23 [1.23 – 4.01]	0.008	1.95 [1.05 – 3.64]	0.035	2.24 [1.20 – 4.20]	0.012

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, education level and inclusion period

Table 8. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of β 2m level on mortality considering lost to follow up as alive

Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a					Cox regression model				
Univariate analysis (N = 908)			Multivariate analysis* (N = 907)		Univariate analysis (N = 908)			Multivariate analysis* (N = 907)	
β 2m level	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value	
< 2.85 mg/L	1		1		1		1		
\geq 2.85 mg/L	3.97 [2.47 – 6.40]	< 0.001	3.54 [2.19 – 5.73]	< 0.001	3.99 [2.43 – 6.56]	< 0.001	3.50 [2.1 – 5.81]	< 0.001	

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age and sex

Table 9. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of CD4 cell counts on mortality considering lost to follow up as deceased

Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a					Cox regression model			
Univariate analysis (N = 908)			Multivariate analysis* (N = 907)		Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)	
bCD4 ^b	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value
≥ 500/μL	1		1		1		1	
< 500/μL	1.06 [0.88 – 1.28]	0.533	1.15 [0.93 – 1.42]	0.195	1.15 [0.95 – 1.39]	0.151	1.15 [0.92 – 1.44]	0.214

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

^bbaseline CD4 cell count

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex and fCD4

Table 10. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of HIV serotype on mortality considering lost to follow up as deceased

Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a					Cox regression model			
Univariate analysis (N = 908)			Multivariate analysis* (N = 907)		Univariate analysis (N = 908)		Multivariate analysis* (N = 907)	
HIV serotype	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value
HIV-2	1		1		1		1	
HIV-1	0.86 [0.70 – 1.07]	0.182	1.02 [0.81 – 1.27]	0.890	0.94 [0.76 - 1.17]	0.571	1.05 [0.84 – 1.32]	0.662
HIV- D	1.01 [0.69 – 1.47]	0.979	1.06 [0.73 – 1.53]	0.756	1.05 [0.70 – 1.58]	0.814	1.07 [0.71 – 1.62]	0.741

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, education level and inclusion period

Table 11. Univariable and multivariable regression models evaluating the effect of β 2m level on mortality considering lost to follow up as deceased

Regression on the cumulative incidence function (CIF) ^a					Cox regression model				
Univariate analysis (N = 908)			Multivariate analysis* (N = 907)		Univariate analysis (N = 908)			Multivariate analysis* (N = 907)	
β 2m level	Crude sHR [95% CI]	p value	Adjusted sHR [95% CI]	p value	Crude HR [95% CI]	p value	Adjusted HR [95% CI]	p value	
< 2.85 mg/L	1		1		1		1		
\geq 2.85 mg/L	1.14 [0.87 – 1.51]	0.342	1.16 [0.88 – 1.55]	0.325	1.15 [0.87 – 1.51]	0.319	1.13 [0.85 – 1.49]	0.403	

^aFine-Gray regression for competing risks endpoints

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age and sex

4.2. Article 2 : Activation immunitaire et exposition sexuelle chez les couples VIH sérodiscordants au Sénégal

Title

Chronic immune activation and sexual exposure among HIV serodiscordant couples in Senegal

Short title: immune activation in HIV-serodiscordance

Authors

Assane Diouf^{1,2,3}, Helen Trottier^{2,3}, Moustapha Mbow⁵, Abdoulaye Seck⁶, Khadim Dramé⁶, Cheikh Tidiane Ndour^{1,7}, Moussa Seydi¹, Souleymane Mboup⁹, Vinh-Kim Nguyen^{2,4}, Assan Jaye⁸

Affiliations

¹Department of Infectious Diseases/Regional Research and Training Center on HIV and Associated Diseases, Fann's University Hospital Center, Dakar, Senegal

²School of Public Health, Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada

³Sainte-Justine University Hospital Research Center, 3175 Côte Sainte-Catherine, Montreal, Canada

⁴Research Center of the Montreal University Hospital Center (CRCHUM), Montreal, Canada

⁵Department of Immunology, FMPO, Cheikh Anta Diop University, Dakar, Senegal

⁶Pasteur Institute, Dakar, Senegal

⁷Division of Fight against aids (DLSI), Dakar, Senegal

⁸Medical Research Council Unit The Gambia

⁹IRESSEF: Institut de Recherche en Santé, de Surveillance Épidémiologique et de Formation, Dakar, Sénégal.

État actuel

Le manuscrit a été soumis pour publication à la revue « Infection » le 03 janvier 2018.

Contribution de l'étudiant

L'étudiant a participé à dessiner le devis d'étude et à rédiger le protocole. Il a coordonné le recrutement des participants et la collecte des données. Il a réalisé l'exploitation des données sous la supervision de sa directrice et écrit la première version du manuscrit sous la supervision de sa directrice et de son superviseur du réseau WAPHIR.

Corresponding author

Dr Assane DIOUF

Address: Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, CHU Sainte-Justine Research Center, 3175 Chemin de la Côte-Ste-Catherine, Room B.17.002, Montreal, Qc, Canada, H3T 1C5. Phone: 514-345-4931 (extension 7152), Fax: 514-345-4801
Email: a.diouf@umontreal.ca

Authors' contributions

AD, HT, VKN, MM and AJ conceived the work

AD and MM coordinated data collection and quality control

AS and KD realized beta-2-microglobulin measurements

AD and HT realized the analysis and the interpretation of the data

AD realized the first draft of the manuscript

HT, VKN, MM, AS, CTN, AJ, MS and SM revised the consecutive drafts

Abstract contains 248 words

Text contains 3471 words

Abstract

Purpose

In Sub-Saharan Africa, an important proportion of incident HIV cases occur among heterosexual serodiscordant couples (HSDC) but the majority of HIV negative partners can remain seronegative. These are called HIV-exposed seronegative (HESN). We aimed to compare immune activation (IA) levels between HESN, their HIV infected counterparts (HIV+ partners) and HIV unexposed uninfected individuals (HIV-neg Controls) and to evaluate the association between sexual exposure to HIV (SEHIV) and IA.

Methods

We conducted a cross-sectional study in Dakar, Senegal on 148 participants recruited between November 2013-February 2014: 40 HIV-neg Controls, 54 HESN and 54 HIV+ Partners.

SEHIV was evaluated individually using questionnaire. IA level was measured by plasma level of β_2 -microglobulin (β_2m). Logistic regression was used to estimate odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) for the different associations.

Results

The median levels of β_2m were 1.57 mg/L (IQR: 1.37-1.77), 2.14 mg/L (IQR: 1.76-2.43) and 2.24 mg/L (IQR: 1.80-3.17) for HIV-neg Controls, HESN and HIV+ partners, respectively. After adjustment, HESN had similar levels of IA with HIV+ partners but significantly higher than that of HIV-neg Controls (adjusted OR = 6.28; 95%CI: [2.19-18.00]). The association between IA and SEHIV was evaluated in the HIV negative individuals. High frequency of SEHIV was associated with a $\beta_2m > 2.2$ mg/L (OR = 6.56; 95%CI: [1.71-25.21]); significantly more than median cut off value of > 1.81 mg/L.

Conclusions

Our study shows that, despite being uninfected with HIV, HESN individuals show a high level of IA, which was depended on level of SEHIV.

Key words

HIV, serodiscordant couples, immune activation, sexual exposure

Background

At-risk populations such as people who inject drugs (PWID), sex workers (SW), men who have sex with men (MSM) and HIV serodiscordant couples are highly exposed to HIV infection. However, despite multiple exposures, many of these individuals remain HIV seronegative; they are referred to as HIV-exposed seronegative (HESN). In sub-Saharan Africa, an important proportion of new HIV infections occur among heterosexual serodiscordant couples (HSDC) [1, 2]. These populations are of particular interest to identify markers of susceptibility to HIV or protection against infection. One of these markers may be the level of immune activation (IA), which is known to drive infection [3 – 6].

IA corresponds to the activation of the cellular components of the immune system, which results to systemic inflammation. It is usually assessed by the expression of cellular or soluble markers derived from reactions of innate or adaptive immune responses [7 – 8]. The role of IA in the pathogenesis of HIV infection has been studied; it was found to be associated with HIV disease progression, increased morbidity and mortality [7, 9, 10]. Mucosal and systemic IA have also been demonstrated in HESN [11], although its role and impact on HIV susceptibility are not elucidated. It is suggested that level of sexual exposure despite being refractory to infection generates IA in HESN [11 – 13]. Compared to people living with HIV (PLHIV), similar or lower levels of IA were reported in HESN [14, 15, 16, 17]. Compared to HIV-neg Controls, some studies reported higher levels of IA in HESN [11, 18, 16, 19] while others reported lower levels [20; 21; 22; 23; 24; 25]. To gain further insight into IA in serodiscordant couples, we aimed to compare the levels (using beta 2 microglobulin (β_2m) as a soluble marker of IA) between HESN, their HIV+ counterparts and HIV-neg Controls; then analyse the association of IA levels and sexual exposure to HIV (SEHIV).

Methods

Context

This study was conducted in Senegal, a West African country with a concentrated HIV epidemic: HIV prevalence is low (0.7%) among pregnant women but high in at-risk populations, reaching 9.4% among PWID, 17.8% among MSM and 18.5% among FSW [26 – 29]. Heterosexual serodiscordant couples (HSDC) in Senegal are followed in the same health

facilities as other people living with HIV (PLHIV) and a serodiscordant cohort was established from the Fann Teaching hospital. The HIV+ partners of HSDC are systematically put under ART similar to other PLHIV when CD4 cell count < 500/ μ L. They also receive counsel to guard on protected sex and no formal recommendation is given for procreation. After ART initiation, they undergo clinical examinations every two months and undertake biological assessments (including blood cell count, transaminases, creatinine, CD4 cell count and plasma viral load [pVL]) every semester.

Subjects' recruitment and data collection

HSCD and HIV-neg controls were recruited in a cross-sectional study between November 2013 and February 2014 at the Fann University teaching hospital. In this hospital, there are two national reference centers for the care of PLHIV from where the Serodiscordant Cohort was established: the « Service des Maladies Infectieuses et Tropicales/Centre Régional de Recherche et de Formation à la Prise en Charge du VIH et Maladies Associées (SMIT/CRCF) » and the « Centre de Traitement Ambulatoire (CTA) ». Individuals were eligible if 1) they were aged ≥ 18 years, 2) they were married or living with a HIV serodiscordant partner for \geq six months, 3) one partner was confirmed HIV seropositive; 4) the other partner was confirmed HIV seronegative; 5) everyone signed an informed consent form. A group of HIV negative seroconcordant couples was also recruited as Controls (HIV-neg Controls) in the same facilities. They were recruited consecutively from couples who presented to the lab for HIV testing. They were eligible if: 1) they were aged ≥ 18 years, 2) they were married or living together for more than six months, 3) both partners were confirmed HIV seronegative; 4) everyone signed an informed consent form. The cross-sectional study population therefore constituted three groups: HIV-neg Controls (HIV-seroconcordant couples), HESN (HIV- partners from discordant couples) and HIV+ Partners (HIV+ partners from discordant couples). Questionnaires on sociodemographic characteristics and sexual practices were administered for all study participants accompanied by routine clinical examinations and blood sampling.

The study protocol was approved by the institutional ethical and research review boards of the participating institutions in Senegal: (*Comité national d'éthique pour la recherche en santé (CNERS)*) of the Ministry of Health) and in Canada (Research Ethical Board of Sainte-Justine University Hospital, Montreal).

Sexual exposure to HIV

SEHIV was represented by the average monthly number of unprotected sexual acts (calculated through the average monthly number of sexual acts and the frequency of condom use). The presence (absence if the number of unprotected sex with a HIV+ partner per month = 0 and presence if this number was > 0) and the frequency (high ≥ 2 per month versus low if < 2 per month) of SEHIV were studied as exposure variables.

Beta-2-microglobulin, CD4, CD8 and viral load measurement

Plasma levels of $\beta 2m$ were measured using the integrated automated Abbott Architect ci4100 system (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany) in accordance with the instructions of the manufacturer; using Quantia $\beta 2m$ reagents under calibrated conditions. Thawed plasma samples that were collected in EDTA tubes were used for a single time point assessment. The results are expressed in mg/L of $\beta 2m$ based on the WHO International Standard [30].

CD4+ and CD8+ T cell counts of all participants were determined using the FACSCount System (BD Biosciences). HIV-1 and HIV-2 RNA levels were measured by the Biocentric ultrasensitive RNA viral load assay with a lower detection limit of 50 copies/mL.

Statistical analysis

The different characteristics of the study population were described by HIV exposure and infection (*HIV-neg Controls, HESN and HIV+ groups*). Comparisons of categorical variables were done using Chi² test. The continuous variables were compared between two groups by t-test (all the expected number > 30 or one expected number < 30 with a normal distribution of the variable) or Mann Whitney/Wilcoxon test (one expected number < 30 with a non-normal distribution of the variable). The comparisons of continuous variables between three groups were done using anova (normal distribution of the variables and equal variances) or Kruskal Wallis test elsewhere.

The association between study groups and $\beta 2m$ level was analysed by a logistic regression model (cut-off point = median of $\beta 2m$ was 2.02 mg/L). We estimated crude and adjusted measures of associations (Odd ratios) with 95% confidence intervals (CI). Confounding was controlled using a 10% change in estimate method (variables that change the estimate by $\geq |10\%|$ were included in the model) among the following potential confounders: age (18 – 32/33 – 39/40 – 49/50 – 68), sex (male vs female), education level (absence/elementary/high school/university), MRDR-estimated glomerular filtration rate

(eGFR) (continuous), presence of comorbidity (yes/no), HBs antigen positivity (yes/no). Age, sex, presence of comorbidity and HBs antigen positivity were tested as effect modifiers. We also used the same methodology to evaluate the association using linear regression.

In a second part, the association between SEHIV and β_2m level was evaluated among HIV susceptible individuals (HIV-neg Controls and HESN). We used different logistic regression models with SEHIV as exposure variable (presence versus absence and high versus low) and β_2m level as outcome variable (cut-off points = median (1.48 mg/L) and third quartile (2.20mg/L)) including previous potential confounders as well as the practice of anal sex (yes/no), the practice of oral sex (yes or no), the existence of occasional sexual(s) partner(s) (yes/no) and the HIV status of the partner (HIV- or HIV+); and in the latter case: duration of HIV infection (continuous), WHO clinical stage (1 or 2 or 3 or 4), pVL (< 50 or ≥ 50), history of therapeutic failure (yes or no). Age, sex, practice of anal sex and existence of occasional sexual partners were tested as effect modifiers. We also repeated the analysis using linear regression.

Results

Study population

Table 1 shows the characteristics of study population: 54 HSDC (108 participants) and 20 HIV negative seroconcordant couples (40 participants). The mean ages of HESN and HIV+ were similar but were higher than that of HIV-neg Controls. Among the HSDC, the male partner was less likely to be HIV+ (40.7% versus 59.3%; $p = 0.054$). All the HIV+ participants were receiving antiretroviral therapy (ART). Among them, three had experienced therapeutic failure and were switched on second line therapy.

Figure 1 describes median β_2m levels by study group. The respective β_2m median levels were 1.57 mg/L (IQR = 1.37 – 1.77) for HIV-neg Controls, 2.14 mg/L (IQR = 1.76 – 2.43) for HESN and 2.24 mg/L (IQR = 1.80 – 3.17) for HIV+ (Fig. 1). Median β_2m levels were significantly lower in the HIV-neg Controls than both in HESN and HIV+ but was not different between HESN and HIV+. The mean levels (with standard deviation, $\pm SD$) were 1.61 mg/L \pm 0.33, 2.18 mg/L \pm 0.88 and 3.03 mg/L \pm 1.86 for HIV-neg Controls, HESN and HIV+ respectively.

Association of β_2m level and study group

Crude and adjusted odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) for the association between β_2m and study group (determined by comparisons in the study subject categories) are presented in table 2. The β_2m level was dichotomized with the median value as the cut-off point: > 2.02 mg/L or ≤ 2.02 mg/L.

After adjustment on age and sex, Plasma β_2m was higher in exposed uninfected subjects compared to HIV negative controls but there was no difference in adjusted measures between HESN and HIV+. Comparing HIV-neg Controls, HESN were more likely to present with a β_2m level > 2.02 mg/L (aOR = 6.28; 95%CI: [2.19 – 18.00]); this is the same for HIV+ (aOR = 8.46; 95%CI: [2.90 – 24.69]). The association was not adjusted for CD4+ T cell count and CD4/CD8 ratio due to the fact that they are intermediates variables in HIV+ individuals. None of the following variables was found to modify the effect of study group on β_2m level: age ($p = 0.110$), sex ($p = 0.665$), presence of comorbidity ($p = 0.435$) and HBs antigen carriage ($p = 0.996$). All these results were similar using linear regression model (See supplementary results).

Association of β_2m level and sexual exposure to HIV

Analysis of sexual exposure was done in the 54 HESN and 40 HIV-neg Controls. For the latter, sexual exposure to HIV was considered null; no pVL were detected in either of the HIV-neg participants. In this population, the median value of β_2m was 1.81 mg/L (IQR = 1.48 – 2.20) which is within normal ranges (24). The β_2m level was considered moderate to high if > 1.81 mg/L (median) and high if > 2.20 mg/L (third quartile). Among the HESN, the average number of unprotected sexual acts per month varied from 0 to 17 with a mean of 2.0 ± 3.5 . It was null for the ones who reported 100% use of condom. A proportion of 21.6% reported practicing oral sex, 3.9% reported practicing anal sex and occasional sex was reported by 10%. The duration of HIV infection of the partner varied from six months to 18 years with a mean of 3.0 years ± 4.4 . A proportion of 57.5% of the HIV+ partners had detectable pVL and a history of therapeutic failure found in 5.6% of them.

Among the HESN, the β_2m level was higher in case of detectable pVL of the partner (2.14 mg/L in case of detectable pVL of the partner versus 1.79 mg/L in case of pVL of the partner < 50 copies/mL; $p = 0.050$) but not in case of history of therapeutic failure (2.05 mg/L if the partner had experienced a therapeutic failure versus 2.19 mg/L if the partner did not

experience a history of therapeutic failure ; $p = 0.788$) of the partner. Among the 27 HESN individuals with detectable pVL in the partner, there was no statistically significant difference by the level of pVL: 2.27 versus 1.96 mg/L at a cut-off point of 1000 copies/mL ($p = 0.961$); 2.15 mg/L versus 2.08 mg/L at a cut-off point of 10000 copies/mL ($p = 0.898$).

The results of the logistic regressions evaluating the association between a moderate to high β_{2m} level (β_{2m} mh) and SEHIV are presented in table 3. After adjustment, neither the presence (aOR = 1.09; $p = 0.895$), nor the frequency of SEHIV (aOR = 2.08; $p = 0.222$) were associated with measure of β_{2m} mh (table 3).

However, with the use of a second set of logistic regression models analysing the third quartile of β_{2m} level as the cut-off point (β_{2m} level was considered high if > 2.2 mg/L); the association between the presence of SEHIV and a β_{2m} h was statistically significant (aOR = 5.36; $p = 0.028$) as well as the association between the frequency of SEHIV and a β_{2m} h (aOR = 6.56; $p = 0.006$) (table 4). The linear regression models found regression coefficients of 0.233 ($p = 0.054$) and 0.564 ($p = 0.003$), respectively (tables 5, 6). None of the following variables was found to be an effect modifier: age ($p = 0.358$), sex ($p = 0.603$) and existence of occasional sexual partners ($p = 0.802$).

Discussion

We conducted a cross-sectional study on 54 HSDC and 20 HIV- negative seroconcordant couples in Senegal. We found that the IA levels (plasma level of β_{2m}) in HIV+ individuals and HESN were not different but, both were higher than the level observed in HIV unexposed uninfected people. Our study also found an association between exposure to HIV through frequency of unprotected sex with infected partner and a high level of IA; not a moderate level.

The interpretation of our results should consider several limitations: i) our study was cross-sectional and such design does not permit to establish the temporal sequence between SEHIV and β_{2m} level; although SEHIV was evaluated in the six months preceding the measurement of β_{2m} level; ii) SEHIV was evaluated based on information given by study subjects and they could have under or miss-reported the frequency of unprotected sex, the practice of anal sex and extra-marital sex due to social desirability; iii) in logistic regression models, β_{2m} levels

were primarily categorized using the median levels, which fell in the normal range of β_2m (0.97-2.67 mg/L) [31]. However, these potential classification errors were non-differential and would only underestimate the measures of association.

The observation of higher IA in HESN than HIV negative controls and similar to those of HIV+ individuals is consistent with some previous studies such as found in HSDC [11, 18] and PWID [16]. In accordance with our results, some studies also reported that HESN such as HSDC [14], FSW [18], and MSM [19] presented with higher levels of IA than unexposed or low risk HIV individuals. In an Amsterdam cohort, the pre-seroconversion T CD4 IA level was found lower among highly exposed MSM who remained HIV seronegative compared to their infected counterparts. [17]. The similar IA levels in HESN and HIV+ as different from the normal levels in HIV-neg Control individuals was still observed following an adjusted analyses that considered age and sex differences although we did not account for specific localised mucosal IA in the comparisons, which could affect IA in African populations [32, 33]. Our observations are however at variance with results showing lower levels of IA in HESN in comparison with HIV+ infected individuals [15] or in comparison with HIV-unexposed or low risk individuals [20, 21-24]. These previous studies that showed low IA in HESN did not demonstrate adjusted analyses. The reduced level of IA reported in ESN is related to quiescent status of the immune system that is less activable than in HIV-neg Controls. This phenomenon called “immune quiescence” may contribute to resistance to HIV-infection [34; 35; 25].

In our study, we categorised frequency of exposure by grouping into low exposure and high exposure based on information of number of unprotected sex/month. Though social inhibition to divulge information about sexual activity is common in this society, we were able to analyse such available data. We found that the frequency of exposure to sexual activity to HIV+ partner (SEHIV) was associated with a high level of IA. This result suggests that there is exposure to the HIV virus and that exposure does impact on immune reaction at a certain level but the negative partner remain seronegative. There are two possible explanations. One one hand, it may be that the study population have high IA level because they are exposed to HIV but are not HIV resistant. The maintenance of an HIV seronegative status may be related to their exposure levels being low enough to allow for maintained seronegativity by chance as the per act chance of seroconversion is in the range of 3/1000. On the other hand, one

proportion of the study population with low IA level irrespective of SEHIV was “immune quiescent” while the other with high IA level associated with SEHIV is at-risk of HIV infection. It will require a long term follow up to analyse if these individuals will succumb to break-through infection or that the IA is the triggered immune mechanism that protects against infection. Different studies found a relation between IA and different measures of sexual exposure to HIV: a previous report in Senegal, showed a negative correlation between CD4⁺/CD38⁺ T cell frequency and condom use among HESN [22] that did not account for duration of sexual relationship or the frequency of sex. This is similar to other reports that linked virus exposure in HIV negative individuals in various populations and showed presence of HIV specific immune responses [11, 14, 15, 12]. However, some limitations of these studies were the use of a not reliable measurement of SEHIV, the low samples’ sizes and the lack of adjustment on potential confounders.

Relationship between SEHIV and immune response or activation in the uninfected persons is difficult to interpret. It may require the assessment of several time point follow up of both HIV⁺ specific cellular responses and IA markers. Many studies showed the role of HIV⁺ specific responses in exposed uninfected individuals on account of triggered IA in sex workers [14, 33, 36], and MSM [37], but HIV correlates of protection still remain elusive although a growing body of evidence is supporting the phenomenon of immune quiescence [34; 35; 25].

It has been reported that IA is possible in HESN in HSDC even in the case of viral control in the HIV⁺ partner [15]. Though all of our HIV⁺ patients were under ART for viral suppression, the majority had a detectable pVL and the IA level was high in presence of viral replication of the partner. It would have been interesting to evaluate the adjusted association between pVL and IA but we were not enough powered to do it although such an association has been established by several studies [15, 12]. To what level plasma IA markers is influenced by the presence of viral load in positive partners will continue to generate interest in the context of frequencies of breakthrough infections in HESN vis-à-vis protection from infection. Understanding the influence of IA in the context of viral load may aid the identification of at-risk HIV uninfected population of potential breakthrough infection and therefore call for more preventive measures.

Moreover, from a public health perspective, it is important to identify most at risk HESN based on epidemiological characteristics in the absence of sophisticated biological parameters.

These latter might not be available in several cases including occasional sex with a HIV+ partner, insufficiency of resources as it is frequently the case in some poor settings.

Our assessment of IA in HESN, though exploratory has been aided by the good sample size from our cohort and patient data that allowed adjustments for confounders in the statistical analyses. Since SEHIV is the main risk factor for HIV transmission in HSDC and IA is critical in the susceptibility to HIV infection [22, 38], it was important to explore the association between SEHIV and IA. This was our objective and our results indicate an association between SEHIV and a high level of IA.

In our study, HESN presented with a median level of β_2m similar to that of HIV+ partners but higher than that of HIV-neg controls. The level of β_2m in HIV-neg persons appears to be associated with SEHIV and the relationship seems to mirror the one between IA and HIV acquisition. However, our study was exploratory and the results must be interpreted with caution. Despite these limitations and in accordance with existing literature, our study seems to indicate two profiles of HESN: those with an immune quiescent status and those without immune quiescence status who presented different relationship with SEHIV. In order to better understand such mechanisms and their relationship with SEHIV, the differences between these two profiles must be more studied. A longitudinal study with a deep analysis of the dynamics of SEHIV and IA would be necessary for this purpose.

Acknowledgements

The authors acknowledge all the members of the WAPHIR Group especially Dr Moussa Thiam of the LBV, the social workers of CRCF and CTA (Mariane Ndiaye Berthé, Djibril Baal, Catherine Fall Sané, Absa Ba and Khady Gassama), the clinicians of CRCF (Dr Judicael Tine, Dr Tracie Joyner Youbong), the clinicians of the CTA (Dr Ndéye Fatou Ngom Guéye), the research assistant of Sainte Justine Research Center (Louise Laporte), the laboratory of Pasteur Institute in Dakar (Dr Raymond Bercion and Mr Khadim Dramé).

Funding

This work is part of a PhD program (epidemiology) that was funded by the West African Platform for HIV Intervention Research (WAPHIR), the GHRI/IDRC (Global Health

Research Institute/International Development Research Centre), Canada, Medical Research Council The Gambia (MRCG) and European Research Council (ERC grant CoG 617930).

AD benefitted scholarships from the WAPHIR, the European Research Council consolidator grant « Eradication: the science and politics of a world without AIDS » and the “Faculté des Études Supérieures et Post Doctorales (FESP)” of Université de Montréal.

HT holds a salary award (chercheur-boursier) from the Fonds de la recherche du Québec en santé (FRQ-S) and from Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (New investigator salary award).

References

1. Dunkle KL, Stephenson R, Karita E, Chomba E, Kayitenkore K, Vwalika C, et al. New heterosexually transmitted HIV infections in married or cohabiting couples in urban Zambia and Rwanda: an analysis of survey and clinical data. *Lancet*. 2008 Jun 28;371(9631):2183-91.
2. Chemaitelly H, Cremin I, Shelton J, Hallett TB, Abu-Raddad LJ. Distinct HIV discordancy patterns by epidemic size in stable sexual partnerships in sub-Saharan Africa. *Sex Transm Infect*. 2012 Feb;88(1):51-7.
3. Lawn SD, Butera ST, Folks TM. Contribution of immune activation to the pathogenesis and transmission of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:753–777.
4. Stevenson M, Stanwick TL, Dempsey MP, Lamonica CA. HIV-1 replication is controlled at the level of T cell activation and proviral integration. *EMBO J* 1990; 9:1551–1560.
5. Stanley SK, Ostrowski MA, Justement JS, Gantt K, Hedayati S, Mannix M et al. Effect of immunization with a common recall antigen on viral expression in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 1996; 334: 1222–1230.
6. Shapira-Nahor O, Kalinkovich A, Weisman Z, Greenberg Z, Nahmias J, Shapiro M, et al. Increased susceptibility to HIV-1 infection of peripheral blood mononuclear cells from chronically immune-activated individuals. *AIDS* 1998; 12:1731–1733.
7. Hsu DC, Sereti I. Chronic immune activation in HIV: In TJ, Stevenson M, Richman D, editors. *Encyclopedia of AIDS*, New York, 2014. p. 1-10.

8. Siewe B, Landay A. Cellular and soluble immune activation markers in HIV-infected subjects: In Hope TJ, Stevenson M, Richman D, editors. *Encyclopedia of AIDS*, New York, 2015. p. 1-8.
9. Sereti I, Altfield M. Immune activation and HIV: an enduring relationship. *Curr Opin HIV AIDS*. 2016 Mar;11(2):129-30.
10. Utay NS, Hunt PW. Role of immune activation in progression to AIDS. *Curr Opin HIV AIDS*. 2016 Mar;11(2):131-7.
11. Biasin M, Caputo SL, Speciale L, Colombo F, Racioppi L, Zagliani A, et al. Mucosal and systemic immune activation is present in human immunodeficiency virus-exposed seronegative women. *J Infect Dis*. 2000 Nov;182(5):1365-74.
12. Suy A, Castro P, Nomdedeu M, García F, López A, Fumero E, et al. Immunological profile of heterosexual highly HIV-exposed uninfected individuals: predominant role of CD4 and CD8 T-cell activation. *J Infect Dis*. 2007 Oct 15;196(8):1191-201.
13. Prodger JL, Hirbod T, Kigozi G, Nalugoda F, Reynolds SJ, Galiwango R, et al. Immune correlates of HIV exposure without infection in foreskins of men from Rakai, Uganda. *Mucosal Immunol*. 2014 May;7(3):634-44.
14. Restrepo C, Rallón NI, del Romero J, Rodríguez C, Hernando V, López M, et al. Low-level exposure to HIV induces virus-specific T cell responses and immune activation in exposed HIV-seronegative individuals. *J Immunol*. 2010 Jul 15;185(2):982-9.
15. Kebba A, Kaleebu P, Serwanga J, Rowland S, Yirrell D, Downing R, et al. HIV type 1 antigen-responsive CD4⁺ T-lymphocytes in exposed yet HIV Type 1 seronegative Ugandans. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004 Jan;20(1):67-75.
16. Tran HK, Chartier L, Troung LX, Nguyen NN, Fontanet A, Barré-Sinoussi FE, et al. Systemic immune activation in HIV-1-exposed uninfected Vietnamese intravascular drug users. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006 Mar;22(3):255-61.
17. Koning FA, Otto SA, Hazenberg MD, Dekker L, Prins M, Miedema F, et al. Low-level CD4⁺ T cell activation is associated with low susceptibility to HIV-1 infection. *J Immunol*. 2005 Nov 1;175(9):6117-22.
18. Jennes W, Sawadogo S, Koblavi-Dème S, Vuylsteke B, Maurice C, Roels TH, et al. Cellular human immunodeficiency virus (HIV)-protective factors: a comparison of HIV-

- exposed seronegative female sex workers and female blood donors in Abidjan, Côte d'Ivoire. *J Infect Dis.* 2003 Jan 15;187(2):206-14.
19. Palmer CD, Tomassilli J, Sirignano M, Romero-Tejeda M, Arnold KB, Che D, et al. Enhanced immune activation linked to endotoxemia in HIV-1 seronegative MSM. *AIDS.* 2014 Sep 10;28(14):2162-6.
 20. Card CM, McLaren PJ, Wachihi C, Kimani J, Plummer FA, Fowke KR. Decreased immune activation in resistance to HIV-1 infection is associated with an elevated frequency of CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells. *J Infect Dis.* 2009 May 1;199(9):1318-22.
 21. Bégaud E, Chartier L, Marechal V, Ipero J, Léal J, Versmisse P, et al. Reduced CD4 T cell activation and in vitro susceptibility to HIV-1 infection in exposed uninfected Central Africans. *Retrovirology.* 2006 Jun 22;3:35.
 22. Camara M, Dieye TN, Seydi M, Diallo AA, Fall M, Diaw PA, et al. Low-level CD4+ T cell activation in HIV-exposed seronegative subjects: influence of gender and condom use. *J Infect Dis.* 2010 Mar 15;201(6):835-42.
 23. Jennes W, Evertse D, Borget MY, Vuylsteke B, Maurice C, Nkengasong JN, et al. Suppressed cellular alloimmune responses in HIV-exposed seronegative female sex workers. *Clin Exp Immunol.* 2006 Mar;143(3):435-44.
 24. Songok EM, Luo M, Liang B, McLaren P, Kaefer N, Apidi W, et al. Microarray analysis of HIV resistant female sex workers reveal a gene expression signature pattern reminiscent of a lowered immune activation state. *PLoS One.* 2012;7(1):e30048.
 25. McLaren PJ, Ball TB, Wachihi C, Jaoko W, Kelvin DJ, Danesh A, et al. HIV-exposed seronegative commercial sex workers show a quiescent phenotype in the CD4+ T cell compartment and reduced expression of HIV-dependent host factors. *J Infect Dis.* 2010 Nov 1;202 Suppl 3:S339-44.
 26. Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD). Enquête Démographique et de Santé à Indicateurs Multiples Sénégal (EDS-MICS) 2010-2011. Février 2012, Dakar, Sénégal.
 27. Rapport Enquête combinée chez les HSH, 2014.

28. Wade AS, Larmarange J, Diop AK, Diop O, Gueye K, Marra A, et al. Reduction in risk-taking behaviors among MSM in Senegal between 2004 and 2007 and prevalence of HIV and other STIs. ELIHoS Project, ANRS 12139. *AIDS Care*. 2010 Apr;22(4):409-14.
29. Leprêtre A, Ba I, Lacombe K, Maynard M, Toufik A, Ndiaye O, et al. Prevalence and behavioural risks for HIV and HCV infections in a population of drug users of Dakar, Senegal: the ANRS 12243 UDSEN study. *J Int AIDS Soc*. 2015 May 22;18:19888.
30. Who International Laboratory for Biological Standards. The International Standard for beta 2 microglobulin. WHO, Medicine and Healthcare Products Regulatory Agency, 1996.
31. Forman DT. *Methods in Clinical Chemistry*. 1987.
32. Cohen CR, Moscicki AB, Scott ME, Ma Y, Shiboski S, Bukusi E, et al. Increased levels of immune activation in the genital tract of healthy young women from sub-Saharan Africa. *AIDS*. 2010 Aug 24;24(13):2069-74.
33. Abdulhaqq SA, Zorrilla C, Kang G, Yin X, Tamayo V, Seaton KE, et al. HIV-1-negative female sex workers sustain high cervical IFN ϵ , low immune activation, and low expression of HIV-1-required host genes. *Mucosal Immunol*. 2016 Jul;9(4):1027-38.
34. Card CM, Ball TB, Fowke KR. Immune Quiescence: a model of protection against HIV infection. *Retrovirology*. 2013 Nov 20;10(1):141.
35. Fulcher JA, Romas L, Hoffman JC, Elliott J, Saunders T, Burgener AD, et al. Highly Human Immunodeficiency Virus-Exposed Seronegative Men Have Lower Mucosal Innate Immune Reactivity. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2017 Aug;33(8):788-795.
36. Rowland-Jones S, Sutton J, Ariyoshi K, Dong T, Gotch F, McAdam S, et al. HIV-specific cytotoxic T-cells in HIV-exposed but uninfected Gambian women. *Nat Med*. 1995 Jan;1(1):59-64. Erratum in: *Nat Med* 1995 Jun;1(6):598.
37. Erickson AL, Willberg CB, McMahan V, Liu A, Buchbinder SP, Grohskopf LA, et al. Potentially exposed but uninfected individuals produce cytotoxic and polyfunctional human immunodeficiency virus type 1-specific CD8(+) T-cell responses which can be defined to the epitope level. *Clin Vaccine Immunol*. 2008. Nov;15(11):1745-8.
38. Pedraza MA, del Romero J, Roldán F, García S, Ayerbe MC, Noriega AR, et al. Heterosexual transmission of HIV-1 is associated with high plasma viral load levels and a positive viral isolation in the infected partner. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1999 Jun 1;21(2):120-5.

Tables

Table 1. Characteristics of the study population by study group (HIV-, HESN and HIV+)

Characteristics		HIV- (N = 40)	HESN (N = 54)	HIV+ (N = 54)	p-value
		Median (IQR ^a) or Mean (SD ^b) or %	Median IQR ^a) or Mean (SD ^b) or %	Median (IQR ^a) or Mean (SD ^b) or %	
β₂m level (mg/L)		1.57 (1.37 – 1.77)	2.14 (1.76 – 2.43)	2.24 (1.80 – 3.17)	<0.001 ^d
Age (years)		34.5 (9.2)	45.8 (10.2)	41.6 (11.1)	<0.001 ^d
Education level (%)					0.055 ^e
No education		15.0	38.9	40.7	
Elementary		47.5	27.8	33.3	
High school		25.0	29.6	20.4	
University		12.5	3.7	5.6	
MDRD	eGFR	87.3 (76.0)	70.7 (19.9)	67.8 (25.0)	0.102 ^d
(ml/mn/1.73m²)					
< 60		11.9	16.2	15.9	0.059 ^e
HBV infection (%)					0.042 ^e
No		75.0	94.0	82.0	
Yes		25.0	6.0	18.0	
Haemoglobin level (g/dL)		12.9 (1.6)	13.2 (1.5)	11.6 (2.3)	<0.001 ^d
WBC (10³/μL)		6.2 (1.3)	5.2 (1.5)	4.5 (1.2)	<0.001 ^d
Lymphocytes (10³/μL)		2.3 (0.6)	2.1 (0.6)	1.7 (0.6)	<0.001 ^d
CD4 counts (cells/μL)		1053.8 (288.6)	929.7 (284.6)	504.1 (276.0)	<0.001 ^d
CD8 counts (cells/μL)		617.3 (284.3)	579.4 (304.8)	809.4 (353.2)	<0.001 ^d
CD4/CD8 ratio		2.0 (0.9)	1.8 (0.8)	0.7 (0.5)	<0.001 ^c
< 1		10.00	11.11	78.43	<0.001 ^d
Male sex (%)			59.3	40.7	0.034 ^d
Time since HIV diagnosis				5.4 (4.7)	
(years)					
HIV serotype					

HIV-1	90.4
HIV-2	3.8
HIV-1 + HIV-2	5.8
WHO clinical stage	
1	5.6
2	16.7
3	11.1
4	66.7
ARN VIH < 50 copies/mL	42.5

^aInterquartile range; ^bStandard deviation; ^cKruskal Wallis test; ^dAnova; ^eChi-square

Table 2. Logistic regression model evaluating the association between β_2m level and study group

β_2m (> 2.02 mg/L)	Univariate analysis		Multivariate analysis*	
	N = 145		N = 144	
Study group	Crude OR [95% CI]	P	Adjusted OR [95% CI]	P
HIV-neg Controls	1		1	
HESN	7.40 [2.77 – 19.78]	<0.001	6.27 [2.19 – 18.00]	0.001
HIV+	8.64 [3.19 – 23.43]	<0.001	8.46 [2.90 – 24.69]	<0.001

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age and sex

Table 3. Logistic regression model evaluating the association between a β_2 m mh (moderate to high versus low using the median as the cutting point) and the SEHIV

β ₂ m mh (> 1.81 mg/L)	Univariate analysis		Multivariate analysis*	
	N = 94		N =89	
	Adjusted OR [95%			
SEHIV	Crude OR [95% CI]	p value	CI]	p value
No	1		1	
Yes	3.07 [1.16 – 8.12]	0.024	1.09 [0.29 – 4.19]	0.895
Low**	1		1	
High***	2.28 [0.76 – 8.81]	0.141	2.08 [0.64 – 6.75]	0.222

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age and sex.

** < 2 unprotected sexual acts per month

*** \geq 2 unprotected sexual acts per month

Table 4. Logistic regression model evaluating the association between a β_2 mh (high versus low using the up quartile as the cutting point) and the SEHIV

β_2 mh (> 2.2 mg/L)	Univariable analysis		Multivariable analysis*	
	N = 94		N =89	
<i>SEHIV</i>	OR [95% CI]	p value	OR [95% CI]	p value
No	1		1	
Yes	7.13 [2.52 – 20.11]	<0.001	5.36 [1.20 – 23.88]	0.028
Low**	1		1	
High***	4.42 [1.46 – 13.40]	0.009	6.56 [1.71 – 25.21]	0.006

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age and, sex

** < 2 unprotected sexual acts per month

*** \geq 2 unprotected sexual acts per month

Table 5. Linear regression models evaluating evaluating the association between β_2m level (continuous) and study group

Univariate analysis			Multivariate analysis*	
N = 145			N = 144	
Study group	Crude β [95% CI]	P	Adjusted β [95% CI]	p value
HIV-neg Controls	1		1	
HESN	0.57 [.06 – 1.08]	0.029	0.70 [0.14 – 1.26]	0.014
HIV+	1.41 [0.89 – 1.93]	<0.001	1.47 [0.91 – 2.03]	<0.001

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age and sex

Table 6. Linear regression model evaluating the association between β_2m (continuous) and the SEHIV

	Univariable analysis		Multivariable analysis*	
	N = 94		N =89	
SEHIV	Crude β [95% CI]	p value	Adjusted β [95% CI]	p value
No	1		1	
Yes	0.61 [0.27 – 0.94]	0.001	0.23 [0.0 – 0.47]	0.054
Low**	1		1	
High***	0.61 [0.22 – 1.00]	0.002	0.56 [0.20 – 0.93]	0.003

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex and HIV status of the partner.

** < 2 unprotected sexual acts per month

*** \geq 2 unprotected sexual acts per month

Figures

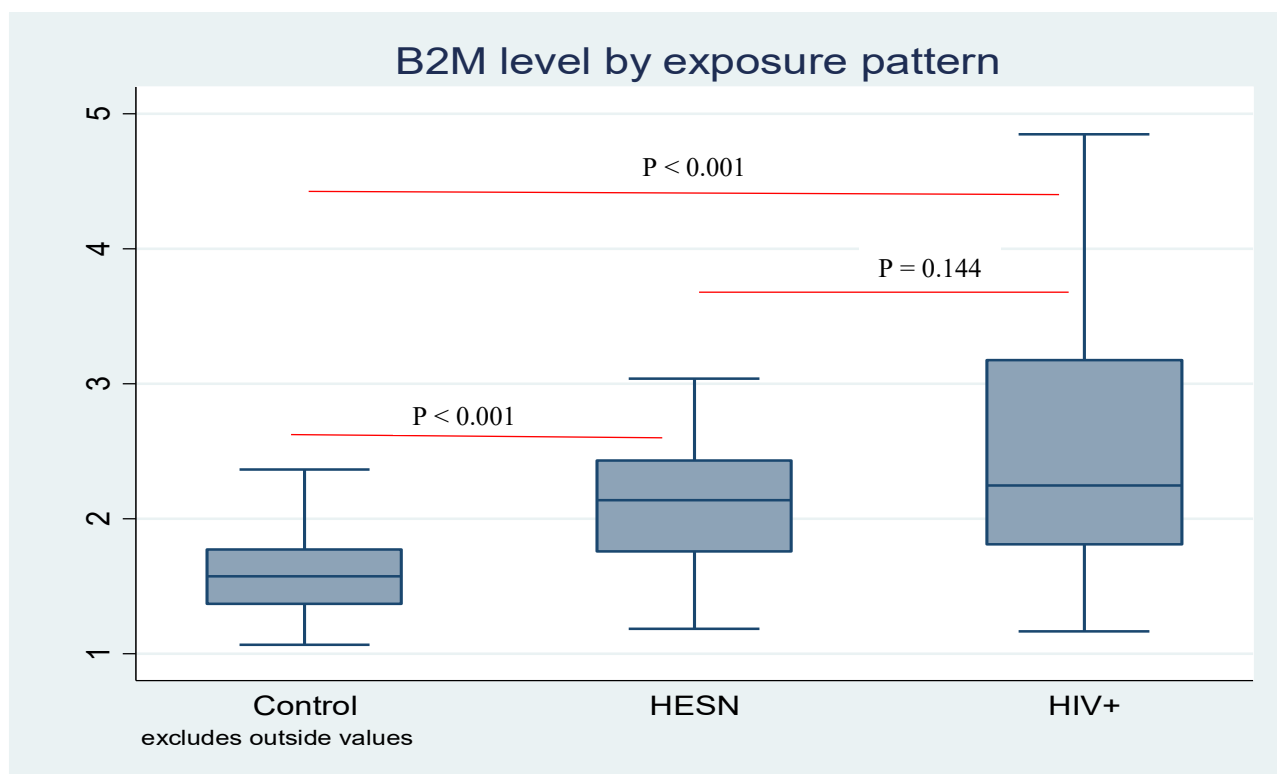
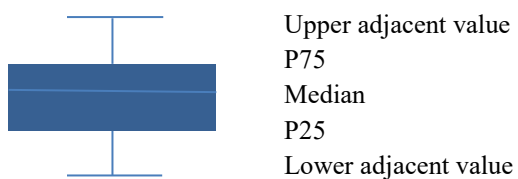


Figure 1. The median values of $\beta 2m$ by study group: the HIV Negative Controls (n = 40), the Highly Exposed Seronegative (n = 54) and the HIV positive partners (n = 54). The comparisons of the median values were done by Mann Whitney/Wilcoxon test after a significant Kruskal Wallis test.



The upper adjacent value is the highest value reported in the range [3^{rd} quartile – 3^{rd} quartile + 1.5 IQR]

The lower adjacent value is the lowest value reported in the range [1^{st} quartile – 1.5 IQR – 1^{st} quartile]

4.3. Article 3 : Vaccination contre la variole et activation immunitaire chronique chez les PVVIH naïves de TARV

Title page

Title

Does smallpox vaccination modify HIV disease progression among ART-naïve people living with HIV in Africa?

Short title: smallpox vaccination and HIV-disease progression

Authors

A. Diouf^{1,2,3}, H. Trottier^{2,3}, T. J. Youbong¹, N. F. Ngom-Guëye⁴, O. Ndiaye¹, A. Seck⁵, D. Sarr⁶, S. Diop⁷, M. Seydi¹, S. Mboup⁷, V. K. Nguyen^{2,8}, A. Jaye⁴

Affiliations

¹Department of Infectious Diseases/Regional Research and Training Center on HIV and Associated Diseases, Fann's University Hospital Center, Dakar, Senegal

²School of Public Health, Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada

³Sainte-Justine University Hospital Research Center, 3175 Côte Sainte-Catherine, Montreal, Canada

⁴Ambulatory Treatment Center, Dakar, Senegal

⁵Pasteur Institute, Dakar, Senegal

⁶Health Promotion Center, Sida Service, Dakar, Senegal

⁷National Blood Transfusion Center, Dakar, Sénégal.

⁸IRESSEF: Institut de Recherche en Santé, de Surveillance Épidémiologique et de Formation, Dakar, Sénégal.

⁹Research Center of the Montreal University Hospital Center (CRCHUM), Montreal, Canada

¹⁰Medical Research Council Unit The Gambia.

État actuel

Le manuscrit est accepté pour publication dans la revue « Epidemiology and Infection » le 14 novembre 2017.

Contribution de l'étudiant

L'étudiant a participé à dessiner le devis d'étude et a rédigé le protocole de l'étude sous la supervision de sa directrice. Il a soumis le protocole au comité national d'éthique du pays concerné et obtenu les autorisations réglementaires. Il a assuré le recrutement de tous les participants et la collecte de toutes les données avec l'aide d'une étudiante en spécialisation en maladies infectieuses à Dakar qui a été formée à ces tâches. Il a réalisé l'exploitation des données sous la supervision de sa directrice et écrit la première version du manuscrit sous la supervision de sa directrice et de son codirecteur.

Corresponding author

Dr Assane DIOUF

Address: Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, CHU Sainte-Justine Research Center, 3175 Chemin de la Côte-Ste-Catherine, Room B.17.002, Montreal, Qc, Canada, H3T 1C5. Phone: 514-345-4931 (extension 7152), Fax: 514-345-4801
Email: a.diouf@umontreal.ca

Authors' contributions

AD, HT, VKN and AJ conceived the work

AD, TJY, NFNG, ON and SD coordinated data collection and quality control

AS realized beta-2-microglobulin measurements

ON realized viral load measurements

AD, TJY and HT realized the analysis and the interpretation of the data

AD realized the first draft of the manuscript

HT, TJY, NFNG, ON, AS, DS, SD, MS, VKN, AJ and SM revised the consecutive drafts

Abstract contains 196 words

Text contains 3539 words

Abstract

We examined the association between a history of smallpox vaccination and immune activation in a population of antiretroviral therapy-naïve people living with HIV (PLHIV). A cross-sectional study was conducted in Senegal from July 2015 to March 2017. Smallpox vaccination was ascertained by the presence of a smallpox vaccine scar and immune activation by the plasma level of beta-2-microglobulin ($\beta 2m$). The association was analysed using logistic regression and linear regression models. The study population comprised 101 PLHIV born before 1980 with a median age of 47 years (interquartile range (IQR) = 42-55); 57.4% were women. Smallpox vaccine scar was present in 65.3% and the median $\beta 2m$ level was 2.59 mg/L (IQR = 2.06-3.86). After adjustment, the presence of a smallpox vaccine scar was not associated with a $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L (adjusted OR = 0.94; 95% CI: 0.32-2.77). This result was confirmed by the linear regression model. Our study does not find any association between the presence of a smallpox vaccine scar and the $\beta 2m$ level and does not support any association between a previous smallpox vaccination and HIV-disease progression. In this study immune activation is not a significant determinant of the reported non-targeted effect of smallpox vaccination in PLHIV.

Key words

ART-naïve, immune activation, smallpox vaccination, Africa

Introduction

Smallpox was declared eradicated in 1980 by the World Health Organization (WHO). The threat of bioterrorism and developments in synthetic biology have fed concerns about the risk that smallpox might return. In 2015, The Independent Advisory Group on Public Health Implications of Synthetic Biology Technology Related to Smallpox said: *“With the development of these technologies, public health agencies have to be aware that henceforth there will always be the potential to recreate variola virus, and therefore the risk of smallpox re-emerging can never be fully eradicated.”* [1]. Hence in 2016, the Advisory Committee on Variola Virus Research (ACVVR) recommended the maintenance of stocks of smallpox viruses. This is mainly for research purposes for the development of diagnostic tests, animal models, smallpox vaccines, and antiviral and therapeutic agents [2]. New smallpox vaccines have been developed and some are in different phases in clinical trials. Improved efficacy and safety profiles than vaccinia virus (VACV) have been reported, suggesting that newer vaccines could be administered to immunosuppressed persons including people living with HIV (PLHIV) [2, 3].

A link between smallpox vaccination and HIV infection has been suggested since the emergence of HIV epidemic. In-vitro experiments have shown that a previous smallpox vaccination could provide a certain protection against HIV infection or disease progression [4, 5]. Previous studies conducted in African populations have also reported a positive effect on immune systems and on mortality [6, 7].

Recent data on the pathogenesis of HIV argue that chronic immune activation is the main factor driving the progression of HIV infection [8]. Immune activation (IA) can be influenced by several factors, including co-infections and the frequency of sexual exposure to

HIV. High levels of IA are reported in Sub-Saharan Africa, where live the majority of PLHIV. IA also depends on non-specific immunity and it has recently been shown that immunity due to the non-specific effect of a pathogen persists in humans and can confer strong and innate non-specific protection [9]. It has been suggested that smallpox vaccination could provide protection even in PLHIV. Moreover, some studies have shown that cellular and humoral immunity of VACV could persist for decades [10, 11, 12].

We hypothesized that PLHIV who had previously received smallpox vaccination would have a lower level of IA and a slower disease progression than those who had not. Sub-Saharan Africa was the last WHO geographical region to eradicate smallpox [13]. In Senegal, smallpox vaccine was administered until 1980, when smallpox was declared eradicated. Senegal is a setting where IA levels are high and where one of the populations with the most recent smallpox vaccination is present. This offers the opportunity to evaluate the epidemiological relationship between a previous smallpox vaccination and HIV disease progression using the level of IA as a marker.

Methods

Study design and population

We conducted a cross-sectional study between July 2015 and March 2017 on a population of antiretroviral therapy (ART)-naïve PLHIV at the « Service des Maladies Infectieuses et Tropicales/Centre Régional de Recherche et de Formation à la Prise en Charge du VIH et Maladies Associées (SMIT/CRCF) », Dakar, Senegal. This is a West African country with a concentrated HIV epidemic: HIV prevalence is low (0.7%) in the general

population, but high in key populations such as people who inject drugs (PWID), men who have sex with men (MSM) and female sex workers (FSW) [14 – 17].

A study population of 101 ART-naïve PLHIV was recruited from the principal HIV treatment sites in the country: the SMIT/CRCF and the « Centre de Traitement Ambulatoire (CTA) » which are reference centers for the care of PLHIV, the « Centre de Promotion de la Santé (CPS) » which is a communal health center and the « Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) » which is the national blood transfusion center where HIV screening was systematically performed for every donor. PLHIV from these sites were included in our study if they: 1) were born before 1980, 2) were ART-naïve, 3) were not hospitalized at the time of the study and 4) signed the inform consent form.

The study protocol was approved by the institutional ethical and research review boards of the participating institutions in Senegal: (*Comité national d'éthique pour la recherche en santé* (CNERES) of the Ministry of Health) and in Canada (Research Ethical Board of Sainte-Justine University Hospital, Montreal).

Data collection

Clinical data were collected during the medical visit and results of laboratory tests were obtained from patient's medical charts. These data were reported on a case report form (CRF) designed for the study.

History of smallpox vaccination

The exposure variable was the history of smallpox vaccination. This was ascertained if smallpox vaccine scar was visible on medical visits. The smallpox vaccine scar presents specific characteristics: it is broken, with a smooth central area, a rough peripheral rim and lines from the centre to the periphery. This differentiates it from the BCG vaccine scar, which

is located on the upper left arm with a raised centre. Although both scars can be round or oval, smallpox scar is usually bigger with a diameter > 10 mm while BCG scar diameter is < 10 mm. Two clinicians independently assessed whether or not the smallpox vaccine scar was present, and only concordant cases (agreement on presence or absence) were retained. The number of smallpox vaccine scars was specified as well as the diameter of the biggest one.

Beta-2-microglobulin measurement

The outcome variable was the β 2m level. Plasma levels of β 2m were measured using the integrated automated Abbott Architect ci4100 system (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany) in accordance with the instructions of the manufacturer; using Quantia β 2m reagents under calibrated conditions. Thawed plasma samples that were collected in EDTA tubes were used for a single time point assessment. The results are expressed in mg/L of β 2m based on the WHO International Standard [18].

Other covariates

The other variables studied were socio-demographic characteristics (age, sex, marital status, occupation, education level), clinical data (body mass index (BMI), presence of BCG vaccine scar), variables related to HIV infection (HIV serotype, WHO clinical stage, CD4 cell count, CD4/CD8 ratio, plasma viral load (VL)) and presence of comorbidities (diabetes, hypertension, cardiovascular disease (CVD), chronic kidney disease (CKD), stroke, viral hepatitis B or C).

Data analysis

The different characteristics of the study population were described for each study group (*presence of a smallpox vaccine scar, absence of smallpox vaccine scar*). Comparisons of categorical variables were done using Chi² test. Continuous variables were compared

between two groups by t-test or Mann Whitney/Wilcoxon test. The comparisons of continuous variables between three groups were done using anova or Kruskal Wallis test.

The association between study group and $\beta 2m$ level was analysed by a logistic regression model with different cut-off points (median = 2.59 mg/L and 4th quintile = 4.73 mg/L). We estimated crude and adjusted measures of association (odds ratios) with 95% confidence intervals (CI). Confounding was controlled using a 10% change in estimate method (variables that change the estimate by $\geq |10\%|$ were included in the model) among the following potential confounders: age (35 – 45/46 – 55/56 – 66), sex (male vs female), marital status (single, married, divorced, widower), education level (absence/elementary/high school/university), occupation (public or private sector executive, other public or private sector employee, informal worker, no current occupation), body mass index (BMI) ($< 18.5/18.5 – 24.9/\geq 25$), presence of a BCG vaccine scar, HIV serotype (HIV-1, HIV-2, HIV-1 + HIV-2 dual infection), WHO clinical stage (stage 1 or 2, stage 3 or 4), estimated glomerular filtration rate (eGFR) (continuous) haemoglobin level ($< 10, \geq 10$), plasma VL (log copies/mL, continuous) and presence of comorbidities (yes, no). Age, sex and presence of a BCG vaccine scar were tested as effect modifiers. We also performed a linear regression model analysis with $\beta 2m$ level (continuous) as an outcome variable using the same methodology.

Statistical analyses were performed using the version 14 of Stata.

Results

Between July 2015 and March 2017, we recruited 101 participants: 57.4% were women (95% CI = 47.4 – 66.8). Median age, BMI, CD4 cell count and CD4/CD8 ratio were 47 years (interquartile range (IQR) = 42 – 55), 22.1 kg/m² (IQR = 19.1 – 27.3), 411 cells/ μ L

(IQR = 149 – 580) and 0.43 (0.18 – 0.95), respectively. The majority of this population (50.5%) was comprised of informal workers while 33.7% had no current occupation. A total of 29 participants (29.3%; 95% CI = 21.1 – 39.2) had CD4 cell count < 200 and 77 (77.8%; 95% CI = 68.4 – 85.0) had a CD4/CD8 ratio < 1. The plasma VL was > 10000 copies/mL for 76.9% of the study population; 95% CI = 66.0 – 85.1. The predominant serotype was HIV-1: 74.2% (95% CI = 64.7 – 81.9) with 21.8% of HIV-2 (95% CI = 14.7 – 31.0) and 4.0% of HIV-dual infection (95% CI = 1.5 – 10.2).

The immunization record was available for only one participant but did not concern the period of interest (before 1980). Only one participant was able to confirm that he had received the smallpox vaccine. A proportion of 65.3% (95% CI = 55.4 – 74.1) of the study population presented with a smallpox vaccine scar. Among them, the proportions of those with one, two or three scars were 74.2% (95% CI = 62.1 – 83.5), 18.2% (95% CI = 10.5 – 29.7) and 7.6% (95% CI = 3.1 – 17.3), respectively. The average diameter of the largest scar was 17.3 mm (standard deviation (SD) = 7.4).

A BCG vaccine scar was found in 59.4% of the study population (95% CI = 49.4 – 68.7).

The average β 2m level was 3.26 mg/L (1.84) and the median level was 2.59 mg/L; IQR = 2.06 – 3.86.

A comorbidity was present in 59.4% of the participants (95% CI = 49.4 – 68.7).

Comparison of the characteristics of participants who presented with a smallpox vaccine scar and those who did not are summarized in table 1. The former were older (median age: 48 years versus 42 years; $p = 0.008$) and more likely to have a BCG vaccine scar (71.2 vs 37.1; $p = 0.001$). They were more likely to present with a comorbidity (43.9% versus 34.3%), with CD4 cell count < 500, to be at an advanced clinical stage (WHO clinical stage 3 or 4), to

be HIV-2 infected but less likely to have a CD4/CD8 ratio < 1 ; however these differences were not statistically significant. Mean $\beta 2m$ levels were similar between the participants with scar: 3.3 (0.22) and without scar 3.2 (0.34); $p = 0.985$. The respective median levels were 2.6 mg/L (IQR = 2.1 – 3.9) and 2.3 (IQR = 2.0 – 3.8) (figure 1).

Association between smallpox vaccine scar and $\beta 2m$ level

We used different logistic regression models with different cut-off points to assess this association. The primary analysis used the median level as a cut-off point: the results of the association between the presence of a smallpox vaccine scar and a $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L are presented in table 2. In univariable analysis, the crude OR for the association between the presence of a smallpox vaccine scar and a $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L was not statistically significant (OR = 1.34; 95% CI = 0.58 – 3.05; $p = 0.485$). $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L was however associated with the BMI and hemoglobin level: the OR for every one unit increase in BMI was 0.92 (95% CI = 0.86 – 0.99; $p = 0.036$) and for every one unit increase in hemoglobin level was 0.77 (95% CI = 0.61 – 0.98; $p = 0.031$). It was also associated with plasma VL (the OR for every one log copies/mL increase was 2.83; 95% CI = 1.67 - 4.78; $p < 0.001$) and WHO clinical stage (the OR for stage 3 and 4 versus stage 1 and 2 = 4.31; 95% CI = 1.12 - 16.53; $p = 0.033$).

After adjustment, there was no association between a $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L and the presence of a smallpox vaccine scar: aOR = 0.94; 95% CI = 0.32 – 2.77 (table 2).

The following variables did not modify this effect: age ($p = 0.459$), sex ($p = 0.821$) and the presence of BCG vaccine scar ($p = 0.199$); Likelihood ratio (LR) test comparing the model with interactions and the model without interactions = 3.59; $p = 0.310$.

The exclusion of persons who were not at school age yet in 1980 from our population did not change our estimates with an aOR of 0.94 (95% CI = 0.25 – 3.51; $p = 0.931$) (supplementary data). The aOR of the association among those with smallpox vaccine scar and BCG vaccine scar compared to those who did not have any scar was 0.62 (95% CI = 0.16 – 2.36; $p = 0.487$) (supplementary data). The aOR of the association among those with ≥ 2 smallpox vaccine scars comparing to those who did have \leq one scar was 0.59 (95% CI = 0.17 – 2.06; $p = 0.411$) (supplementary data). As shown in table 3, when considering the 4th quintile as the cut-off point, the association between the presence of a smallpox vaccine scar and a $\beta 2m$ level ≥ 4.73 mg/L did not change substantially (aOR = 0.66; 95% CI = 0.10 – 4.74; $p = 0.681$). The results were also in accordance with the results of the linear regression model for the association between the presence of a smallpox vaccine scar and $\beta 2m$ level treated as a continuous variable (table 4).

Discussion

In this population of 101 ART-naïve PLHIV, there was no difference in the level of $\beta 2m$ between those who presented with a smallpox vaccine scar and those who did not. After adjustment, the presence of a smallpox vaccine scar was not associated with the $\beta 2m$ level. Our study population was relatively homogeneous and two different clinicians independently assessed the presence of a smallpox vaccine scar. The diameter of the biggest smallpox vaccine scar found in our study was concordant with previously published findings [6, 7, 19, 20]. We also collected information on occupation, education level and other comorbidities that might influence this association. The results of our analyses remained unchanged when considering people who were at least at school age when smallpox vaccination was stopped or

when excluding people with BCG scar. Nor did they change when considering those with smallpox and BCG scars comparing to those without any scar; nor when comparing those with < 2 scars and those with ≥ 2 smallpox vaccine scars. This limits potential bias due to misclassification of exposure as well as selection bias.

Several limitations affect this study: 1) we are attempting to establish an association between an exposure and an outcome measured more than 37 years after the exposure, 2) the sample size was low and, 3) there are no validated measures of a smallpox vaccine scar resulting in potential classification errors. Such errors might be non-differential since the outcome variable (β_2 level) was measured in an external laboratory without any information on the hypotheses studied. In this case, the effect would be underestimated. A temporal bias cannot be excluded: even if the first cases of AIDS were reported in the United States in 1981 (after smallpox vaccination was stopped), recent studies have suggested that AIDS originated in Central Africa in the 1920's and spread to Western Africa before 1980 [21, 22].

We did not find any studies that assessed the association between a previous smallpox vaccination and IA in the general population or in PLHIV. However, several studies examined the link between HIV infection and smallpox vaccination. Some studies reported that smallpox vaccination was associated with a positive effect on immune response and mortality in PLHIV. Durable and neutralizing antibody titres after remote smallpox vaccination have been demonstrated in American PLHIV and would offer a certain protection against the disease [23]. Weinstein RS et al. found a slower in vitro replication of CCR5-tropic HIV-1 suggesting a certain protection against infection or disease progression [5].

Two clinical studies conducted in Guinea-Bissau reported long term benefits of smallpox vaccination on mortality 26 years after the vaccination had occurred. They found

that the presence of a smallpox vaccine scar was associated with lower mortality in PLHIV. The first one took place in an urban setting and reported a mortality ratio of 0.60 in the global adult population comprising 502 PLHIV and the mortality ratio was not different in this group [7]. The second one reported a mortality ratio of 0.22 among 193 PLHIV in a rural area [6]. This was not found in a recent case-cohort study conducted on a sub cohort of 5316 schoolchildren born in 1965-1976 and registered in the Copenhagen School Health Record Register (CSHRR): the adjusted mortality hazard ratio (aHR) for smallpox vaccinated versus not vaccinated was 0.75 (95% CI = 0.47 – 1.22). This study did not confirm results from Guinea-Bissau although the authors noted a trend to reduced mortality [24]. Another study in the same CSHRR reported that smallpox vaccination was associated with a reduced risk of infectious disease hospitalization [25]. Both Danish studies used a more accurate measure of smallpox vaccination. Vaccination status was ascertained from vaccination cards where this information is systematically recorded. This is one strength of these studies compared to the studies from Guinea-Bissau which use the observation of a scar as measure of previous smallpox vaccination.

If previous smallpox vaccination reduces mortality in PLHIV, the most plausible mechanism would be by the reduction of IA which itself is the main driver of HIV infection. Our study did not find that smallpox vaccination was associated with decreased IA. It did not find the positive effects reported in previous studies [6, 7, 25]. The discrepancies between these studies and our findings may be because the immune stimulation consecutive to smallpox vaccination has a limited duration that is not as long as the period considered in our study. It has already been found that antiviral T-cell responses decline slowly while antiviral antibody responses remain stable for decades after smallpox vaccination or infection [26].

The differences in mortality previously observed might not be related to IA but to pathways unrelated to HIV disease progression. This is supported by the observation that the benefits observed in PLHIV are also observed in HIV negative persons [6, 7, 24, 25]. Moreover, live vaccines such a smallpox vaccine and measles vaccine have long-term benefits on health even after the targeted infection is resolved, supporting the concept of non-targeted effect of vaccines [27]. In addition, smallpox vaccine scar was reported to confer a certain protection against other conditions not related to HIV [24, 25, 28 – 35].

Like every cross-sectional study, our study population was constituted by the persons who were alive at the moment of the study. Those with poorer health outcomes at the time of smallpox vaccination were more likely to be deceased before the measurement of the outcome. This may be the case for those to whom the smallpox vaccine was contra-indicated.

Generally, the immunogenicity of vaccines is lower in PLHIV when viral replication is not controlled and when the CD4 lymphocyte count is less than 500 cells/ μ L and even more when less than 200/ μ L. The protection obtained is of short duration and may require more frequent booster vaccinations than in immunocompetent persons [36]. An important proportion of our study population had ≤ 500 CD4/ μ L. The lower immunogenicity of smallpox vaccine in PLHIV can be supported by the results of Kan VL et al on US veterans who received two Dryvax vaccinations before 1991. Comparing smallpox neutralizing antibodies between 20 PLHIV and 20 matched (on age and entry at military service) HIV negatives, neutralizing antibodies were found in 95% of PLHIV vs 100% of controls, and protective levels were found in 40% of PLHIV vs. 70% of controls [23]. These proportions would be probably lower in our population where 74.2% of participants with vaccine scars had only one scar.

Groups with a higher socioeconomic level might have greater access to vaccination in general and would be expected to have better survival. This would help to explain why in our study population, participants with a smallpox vaccine scar were more likely to have a BCG vaccine scar. In our population, there was no difference in measures of socio-economic status (i.e. occupation and education) between the two groups and estimates were adjusted on these variables. However, these variables do not accurately reflect the socioeconomic level at the moment of smallpox vaccination that had occurred decades before. This might impact measures of association in our study as well as in previous studies from Guinea-Bissau. Individuals who recover from smallpox should have immunologic profiles similar to those of vaccinated persons but will not present with smallpox scar [26, 37]. This might have a conservative effect on the association between smallpox vaccine scar and IA or mortality.

In this study, we hypothesized that ART-naïve PLHIV who had been vaccinated against smallpox had lower level of IA than those who had not. Using a cross-sectional study design, we did not find any association between the presence of smallpox scar and the $\beta 2m$ level. No previous study has analyzed the association between IA level and smallpox vaccination although studies have reported benefits of smallpox vaccinations on morbidity and mortality in different populations including PLHIV. These benefits are attributed to the non-targeted effects of smallpox vaccine whose underlying mechanisms are poorly understood. The results of our study suggest that the IA level might not be a significant determinant of the non-targeted effect of smallpox vaccination in PLHIV. However more accurate measures of the history of smallpox vaccination such as antibody levels after cellular activation and a better study design would permit to gain further insight into the relationship between smallpox vaccination and IA among PLHIV.

Acknowledgements

The authors acknowledge all the members of the WAPHIR Group, the social workers of CRCF and CTA (Mariane Ndiaye Berthé, Djibril Baal, Catherine Fall Sané, Absa Ba and Khady Gassama), the clinicians of CRCF (Dr Judicael Tine, Dr Tracie Joyner Youbong), the clinicians of the CTA (Dr Ndiaga Diop, Dr Fatimata Wone), the clinicians of the CPS (Dr Ferdinand Faye and colleagues), the research assistant of Sainte Justine Research Center (Louise Laporte), the laboratory of Pasteur Institute in Dakar (Dr Raymond Bercion and Mr Khadim Dramé).

Funding

This work is part of a PhD program (epidemiology) that was funded by the West African Platform for HIV Intervention Research (WAPHIR), the GHRI/IDRC (Global Health Research Institute/International Development Research Centre), Canada, Medical Research Council The Gambia (MRCG) and European Research Council (ERC grant CoG 617930).

AD benefitted scholarships from the WAPHIR, the European Research Council consolidator grant « Eradication: the science and politics of a world without AIDS » and the “Faculté des Études Supérieures et Post Doctorales (FESP)” of Université de Montréal.

HT holds a salary award (chercheur-boursier) from the Fonds de la recherche du Québec en santé (FRQ-S) and from Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (New investigator salary award).

References

1. The Independent Advisory Group on Public Health Implications of Synthetic Biology Technology Related to Smallpox. A report to the Director-General of WHO. WHO, Geneva, Switzerland 29-30 June 2015.
2. WHO Advisory Committee on Variola Virus Research. Report of the Eighteenth Meeting. WHO, Geneva, Switzerland 2-3 November 2016.
3. Greenberg RN, et al. Safety, immunogenicity, and surrogate markers of clinical efficacy for modified vaccinia Ankara as a smallpox vaccine in HIV-infected subjects. *Journal of Infectious Diseases* 2013 Mar 1; 207:749-58.
4. Weinstein RS, et al. Significantly reduced CCR5-tropic HIV-1 replication in vitro in cells from subjects previously immunized with Vaccinia Virus. *BMC Immunology* 2010 May 18;11:23.
5. Weinstein RS, Weinstein MM, Alibek K Inventors; Weinstein RS, Weinstein MM, Alibek K assignees. Compositions and methods for treating or preventing HIV infection. United States patent US20100189747 A1, 2010 jul 29.
6. Jensen ML, et al. Vaccinia scars associated with improved survival among adults in rural Guinea-Bissau. *PLoS One* 2006 Dec 20;1:e101.
7. Aaby P, et al. Vaccinia scars associated with better survival for adults. An observational study from Guinea-Bissau. *Vaccine* 2006 Jul 17;24:5718-25.
8. Miedema F, et al. Immune Activation and Collateral Damage in AIDS Pathogenesis. *Frontiers in Immunology* 2013 Sep 26;4:298.
9. Netea MG, Quintin J, van der Meer JW. Trained immunity: a memory for innate host defense. *Cell Host & Microbe* 2011 May 19;9:355-61.

10. Demkowicz WE Jr, et al. Human cytotoxic T-cell memory: long-lived responses to vaccinia virus. *Journal of Virology* 1996 Apr;70:2627-31.
11. Crotty S, et al. Cutting Edge: Long-Term B Cell Memory in Humans after Smallpox Vaccination. *J Immunol.* 2003; 171:4969-4973.
12. Taub DD, et al. Immunity from smallpox vaccine persists for decades: a longitudinal study. *The American Journal of Medicine* 2008 Dec;121:1058-64.
13. Organisation Mondiale de la Santé. Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010. OMS, Décembre 2010.
14. Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD). Enquête Démographique et de Santé à Indicateurs Multiples Sénégal (EDS-MICS) 2010-2011. Février 2012, Dakar, Sénégal.
15. République du Sénégal, Conseil National de Lutte contre le Sida. Rapport Enquête combinée chez les HSH. Dakar, Sénégal, 2014.
16. Wade AS, et al. Reduction in risk-taking behaviors among MSM in Senegal between 2004 and 2007 and prevalence of HIV and other STIs. ELIHoS Project, ANRS 12139. *AIDS Care* 2010 Apr;22:409-14.
17. Leprêtre A, et al. Prevalence and behavioural risks for HIV and HCV infections in a population of drug users of Dakar, Senegal: the ANRS 12243 UDSEN study. *Journal of the International AIDS Society* 2015 May 22;18:19888.
18. Who International Laboratory for Biological Standards. The International Standard for beta 2 microglobulin. WHO, Medicine and Healthcare Products Regulatory Agency, 1996.
19. Fine PE, Ponnighaus JM, Maine N. The distribution and implications of BCG scars in northern Malawi. *Bulletin of the World Health Organization* 1989;67:35-42.

20. Poulsen AG, et al. Risk factors for HIV-2 seropositivity among older people in Guinea-Bissau. A search for the early history of HIV-2 infection. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2000;32:169-75.
21. Gottlieb MS, et al. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1981; 30:250–252.
22. Faria NR, et al. HIV epidemiology. The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. *Science* 2014 Oct 3;346:56-61.
23. Kan VL, et al. Durable neutralizing antibodies after remote smallpox vaccination among adults with and without HIV infection . *AIDS*. 2007 Feb 19; 21:521-4.
24. Rieckmann A, et al. Vaccinations against smallpox and tuberculosis are associated with better long-term survival: a Danish case-cohort study 1971-2010. *International Journal of Epidemiology* 2017 Apr 1;46:695-705.
25. Sørup S, et al. Smallpox vaccination and all-cause infectious disease hospitalization: a Danish register-based cohort study. *International Journal of Epidemiology* 2011 Aug;40:955-63.
26. Hammarlund E, et al. Antiviral immunity following smallpox virus infection: a case-control study. *Journal of Virology* 2010 Dec;84:12754-60.
27. Muraille E. The Unspecific Side of Acquired Immunity Against Infectious Disease: Causes and Consequences. *Frontiers in Microbiology* 2016 Jan 11;6:1525.
28. Gilat T, et al. Childhood factors in ulcerative colitis and Crohn's disease. An international cooperative study. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1987;22:1009–24.
29. Kurtzke JF, et al. Multiple sclerosis in the Faroe Islands. 7. Results of a case control questionnaire with multiple controls. *Acta Neurologica Scandinavica* 1997;96:149–57.

30. Pfahlberg A, et al. Inverse association between melanoma and previous vaccinations against tuberculosis and smallpox: results of the FEBIM study. *Journal of Investigative Dermatology* 2002;119:570–5.
31. Kolmel KF, et al. Prior immunisation of patients with malignant melanoma with vaccinia or BCG is associated with better survival. A European Organization for Research and Treatment of Cancer cohort study on 542 patients. *European Journal of Cancer* 2005;41:118–25.
32. Bager P, et al. Smallpox vaccination and risk of atopy and asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003;111:1127–31.
33. Blom L, et al. Vaccinations and infections as risk determinants for diabetes in childhood. *Diabetologia* 1991;34:176–81.
34. Classen J, Classen DC. Immunization in the first month of life may explain decline in incidence of IDDM in The Netherlands. *Autoimmunity* 1999;31:43–5.
35. Mayr A. Taking advantage of the positive side-effects of smallpox vaccination. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2004 Jun;51:199-201.
36. Crum-Cianflone NF, Sullivan E. Vaccinations for the HIV-Infected Adult: A Review of the Current Recommendations, Part II. *Infect Dis Ther*. 2017 Aug 5.
37. Bray M, Buller M. Looking back at smallpox. *Clinical Infectious Diseases* 2004 Mar 15; 38(6):882-9.

Tables

Table 1. Characteristics of the study population by the presence of a smallpox vaccine scar

Characteristics	With scar		Without scar		p-value
	N	Median (IQR ^a) or %	N	Median (IQR) or %	
Age (years)	66	48 (44 - 56)	35	42 (39 - 52)	0.018
35 - 45	22	33.3	22	62.9	
46 - 55	27	40.9	7	20.0	0.016
> 55	17	25.8	6	17.1	
Sex	66		35		0.967
Male	28	42.4	15	42.9	
Female	38	57.6	20	57.1	
Education level	66		35		0.595
No education	16	24.2	8	22.9	
Elementary	25	37.9	10	28.6	
High school	19	28.8	11	31.4	
University	6	9.1	6	17.1	
Profession	66		35		0.799
No current occupation	24	36.4	10	28.6	
Informal work	33	50.0	18	51.4	
Other public or private sector employee	5	7.6	4	11.4	
Public or private sector executive	4	6.1	3	8.6	
BMI (kg/m²)	66	22.2 (19.3 – 27.4)	35	22.0 (19.8 – 26.9)	0.740
Comorbidities	66		35		0.347
Yes	29	43.9	12	34.3	
MDRD eGFR (ml/mn/1.73m²)	66	89.2 (72.6 – 105.6)	35	85.0 (72.7 – 100.2)	0.881
< 60	7	10.6	3	8.6	0.745
HIV serotype	66		35		0.361
HIV-1	47	71.2	28	80.0	
HIV-2	17	25.8	5	14.3	
HIV-1 + HIV-2	2	3.0	2	5.7	
WHO clinical stage	66		25		0.263
1 or 2	55	83.3	32	91.4	
3 or 4	11	16.7	3	8.6	
CD4 counts (cells/μL)	66	393.0 (138 – 580)	35	501.0 (184 – 568)	0.622
< 500	40	60.6	16	48.5	0.251
CD4/CD8 ratio	66	0.42 (0.17 – 1.03)	33	0.43 (0.30 – 0.71)	0.795
< 1	49	74.2	28	84.8	0.231
HIV VL (log copies/mL)	48	4.8 (3.5 – 5.8)	30	5.1 (4.3 – 5.9)	0.465
β₂m level (mg/L)	66	2.6 (2.1 – 3.9)	35	2.3 (2.0 – 3.8)	0.600
BCG vaccine scar	66		35		0.001
Present	47	71.2	13	37.1	

^aIQR : Interquartile range

Table 2. Logistic regression models evaluating the effect of smallpox scar on a $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980

	Univariable analysis		Multivariable analysis*	
	N = 101		N = 99	
Smallpox vaccine scar	Crude OR [95% CI]	p value	Adjusted OR [95% CI]	p value
Absent	1		1	
Present	1.34 [0.58 – 3.05]	0.485	0.94 [0.32 – 2.77]	0.908

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, education level, WHO clinical stage, haemoglobin level, comorbidity and presence of BCG vaccine scar

Table 3. Logistic regression models evaluating the effect of smallpox scar on a $\beta 2m$ level ≥ 4.73 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980

	Univariable analysis		Multivariable analysis*	
	N = 101		N = 99	
Smallpox vaccine scar	Crude OR [95% CI]	p value	Adjusted OR [95% CI]	p value
Absent	1		1	
Present	0.75 [0.27 – 2.05]	0.575	0.66 [0.10 – 4.74]	0.681

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, BMI, education level, WHO clinical stage, haemoglobin level and presence of BCG vaccine scar

Table 4. Linear regression models evaluating the effect of smallpox scar on a $\beta 2m$ level (continuous) among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980

	Univariable analysis		Multivariable analysis*	
	N = 101		N = 99	
Smallpox vaccine scar	Crude β [95% CI]	p value	Adjusted β [95% CI]	p value
Absent	1		1	
Present	0.03 [-0.74 – 0.79]	0.945	-0.08 [-0.80 – 0.63]	0.818

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, BMI, marital status, occupation, education, HIV serotype, WHO clinical stage, haemoglobin level, comorbidity, plasma VL and presence of BCG vaccine scar

Figures

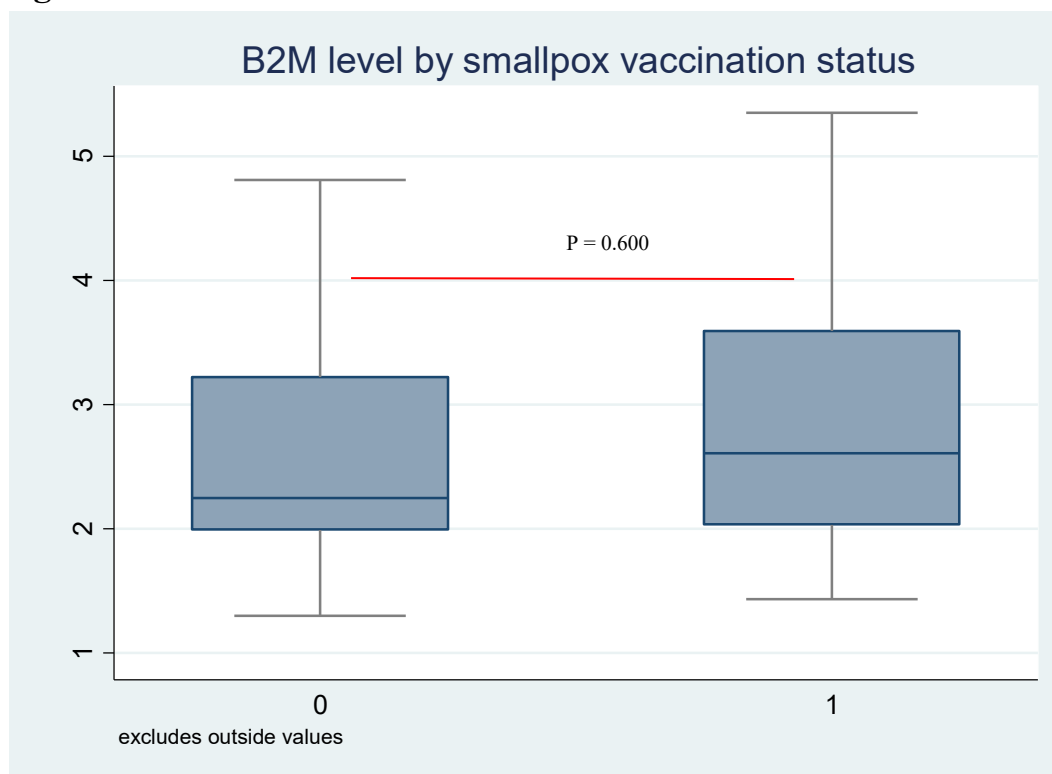
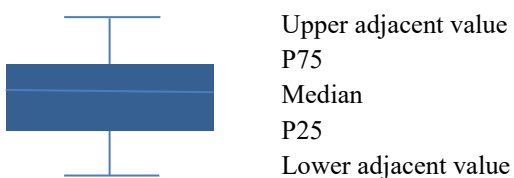


Figure 1. Median β 2m level by smallpox scar status (absence versus presence) among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980.



The upper adjacent value is the highest value reported in the range [3rd quartile – 3rd quartile + 1.5 IQR]

The lower adjacent value is the lowest value reported in the range [1st quartile – 1.5 IQR – 1st quartile]

Supplementary results

Table 5. Logistic regression models evaluating the effect of smallpox scar on a $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1974

	Univariable analysis		Multivariable analysis*	
	N = 79		N = 77	
Smallpox vaccine scar	Crude OR [95% CI]	p value	Adjusted OR [95% CI]	p value
Absent	1		1	
Present	0.99 [0.36 – 2.71]	0.984	0.94 [0.25 – 3.51]	0.931

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, education level, WHO clinical stage, haemoglobin level, comorbidity and presence of BCG vaccine scar

Table 6. Logistic regression models evaluating the effect of a smallpox vaccine scar and BCG vaccine scar on a $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980

	Univariable analysis		Multivariable analysis*	
	N = 69		N = 67	
Smallpox + BCG scars	Crude OR [95% CI]	p value	Adjusted OR [95% CI]	p value
Absent	1		1	
Present	0.79 [0.28 – 2.19]	0.646	0.62 [0.16 – 2.36]	0.487

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, education level, WHO clinical stage, haemoglobin level, comorbidity and presence of BCG vaccine scar

Table 7. Logistic regression models evaluating the effect of multiple smallpox vaccine scars on a $\beta 2m$ level ≥ 2.59 mg/L among Senegalese ART-naïve PLHIV born before 1980

	Univariable analysis		Multivariable analysis*	
	N = 101		N = 99	
Smallpox vaccine scar	Crude OR [95% CI]	p value	Adjusted OR [95% CI]	p value
< 2	1		1	
≥ 2	0.84 [0.30 – 2.41]	0.756	0.59 [0.17 – 2.06]	0.411

*multivariate model adjusted for the following confounding variables (using a 10% change in estimate methods): age, sex, education level, WHO clinical stage, haemoglobin level, comorbidity and presence of BCG vaccine scar

5. Discussion

Malgré les progrès réalisés dans la lutte contre le sida, l'infection à VIH reste un problème de santé publique majeur responsable d'un million de décès en 2016. Elle n'épargne aucune couche de la population mais reste particulièrement préoccupante chez les jeunes de 15 à 24 ans. C'est dans cette tranche d'âge que surviennent plus de 30% des nouvelles infections et le VIH/sida y est la 2^e cause de décès chez les femmes en Afrique. Justement, plus de 30% de la population d'Afrique Subsaharienne se situe dans cette tranche d'âge. Il faut accorder une attention particulière à l'infection VIH en Afrique Subsaharienne (MacQueen, 2017; UNAIDS, 2017a). C'est ce que nous avons fait à travers cette thèse dont les thèmes principaux étaient la mortalité et l'activation immunitaire chronique.

L'étude de la mortalité sur une cohorte de 908 PVVIH naïves de TARV, suivies pendant 18 ans dans des conditions réelles nous a permis de produire des données rares en Afrique Subsaharienne. L'analyse de l'association entre le niveau de CD4 et la mortalité montre une mortalité plus élevée dans la strate de CD4 « 350-499 » par rapport à la strate « ≥ 500 » : asHR = 1,49 ; p = 0,017. Cette analyse apporte des éléments de réponse quant au meilleur moment pour l'initiation du TARV chez les PVVIH. Si la recommandation de TARV universel semble pertinente dans les pays développés, elle l'est beaucoup moins dans les PRL où des problèmes de faisabilité, de coût-efficacité et d'efficience se posent (Bigna et al., 2016; Corrao et al., 2016; Lopez-Cortes et al., 2016). L'étude de la mortalité en fonction du sérotype viral a également permis d'aborder une problématique propre à l'Afrique occidentale; mais aussi de participer au débat sur une potentielle inhibition de l'infection par le VIH-1 par une coinfection par le VIH-2. Nos résultats confirment une mortalité supérieure chez les PVVIH-1 (asHR = 1,66 ; p = 0,008) et les coinfectés (asHR = 2,15 ; p = 0,006) par rapport aux PVVIH-2. Le VIH-2 est reconnu moins virulent que le VIH-1 et ce modèle moins pathogène serait intéressant pour la recherche vaccinale et de cure (Azevedo-Pereira et Santos-Costa, 2016; Saleh et al., 2017). Nos résultats, en accord avec la majorité de la littérature, ne permettent pas d'affirmer un effet inhibiteur du VIH-2 sur le VIH-1. Par ailleurs, l'AIC constitue un phénomène très peu étudié en Afrique Subsaharienne et très peu connu en pratique clinique. Son rôle sur la mortalité n'a pas été clairement établi chez les populations africaines ayant des

niveaux de CD4 élevés : notre étude y apporte des données et montre qu'un niveau de $\beta 2m$ élevé ($\geq 2,85$ mg/L) est associé à un risque de décès plus élevé (asHR = 3,23 ; $p < 0,001$).

L'étude de l'AIC chez les ESN plus particulièrement les CHSD est importante à plus d'un titre, car elle permet de situer le niveau d'AIC des ESN d'une part par rapport aux PVVIH et d'autre part par rapport à des contrôles séronégatifs. Notre étude a permis de montrer que l'AIC est associée à la fréquence de l'ESVIH : aOR = 6,56; $p = 0,006$. Cette association permet de générer des hypothèses sur les particularités immunologiques des ESN. Les perspectives d'identification de facteurs de risque d'infection à VIH ou de facteurs de protection sont importantes dans cette population chez qui le désir de grossesse peut être associé à un risque important d'infection. Par ailleurs, il n'existe pas de directive claire pour la procréation dans cette population dans la plupart des PRL.

Finalement, à la suite d'études ayant établi une relation entre la VCV et la mortalité chez les PVVIH, nous avons exploré l'association entre la VCV et la progression de l'infection à VIH à travers le niveau d'AIC. Nous n'avons pas trouvé d'impact de la VCV sur le niveau de $\beta 2m$: aOR = 0,94; $p = 0,908$. Nos résultats suggèrent qu'un éventuel effet protecteur de la VCV ne serait pas en rapport avec un mécanisme propre à l'AIC au cours de l'infection à VIH mais plutôt avec d'autres mécanismes non spécifiques, notamment les effets non ciblés de la VCV. Ces derniers sont cependant difficiles à évaluer dans les études observationnelles (Fine et al., 2009).

Ce travail a été réalisé non sans difficultés et chacune des études comporte ses points forts et ses points faibles que nous aborderons dans les sections suivantes.

5.1. Difficultés en rapport avec la thèse

Nous avons connu quatre principales difficultés dans la réalisation de ce travail. La première difficulté découle de notre choix de travailler sur plusieurs populations différentes avec des devis d'étude différents. Cela a nécessité un investissement conséquent, car il s'agissait d'imaginer, d'implémenter, de mettre en place, de collecter et d'analyser les données pour trois études différentes.

La deuxième difficulté était en rapport avec le fait de travailler sur une base de données déjà figée. En effet, la base de données WAPHIR sur laquelle nous avons travaillé pour notre premier objectif est figée depuis 2012. Nous n'avons pas de contrôle sur les différentes mesures (exposition, événement, co-variables) et avons travaillé sur les données qui étaient disponibles. Parmi ces dernières, l'IMC, le stade clinique et la charge virale n'étaient renseignés que pour moins de 20% de notre population d'étude. Du fait de la non-disponibilité des dossiers sources, il nous a été impossible de compléter ces données manquantes et ces variables n'ont pas pu être prises en compte dans nos analyses. Il en était de même de la biobanque dans laquelle nous n'avons pu retrouver des échantillons de sang congelés que pour 263 personnes de notre population d'étude sur 908. Nous avons prioritairement réalisé les dosages de la β 2m sur ces prélèvements. Les dosages de la charge virale plasmatique ont été effectués sur ce qui restait de ces prélèvements après dosage de la β 2m. Étant donné les faibles volumes qui étaient trouvés dans la biobanque, la charge virale n'a été réalisée que pour 169 personnes de notre population d'étude. Les conséquences de ces données manquantes ont été discutées au chapitre 5.2.

Une troisième difficulté était d'émettre des hypothèses entre une exposition (VCV) et un événement survenus à des dates très éloignées avec forcément des limites sur la mesure de l'exposition et des facteurs de confusion potentiels.

La dernière difficulté était en rapport avec l'interférence des recommandations OMS de mise sous TARV sur le recrutement de nos participants pour l'objectif 3 (WHO, 2013; WHO, 2016). En effet, avec l'adoption de ces recommandations au Sénégal, le TARV est démarré de plus en plus tôt, le recrutement de PVVIH naïves de TARV en est davantage difficile. Il s'ajoute à cette difficulté le fait qu'on devait recruter des sujets nés avant 1980 alors que les nouvelles infections surviennent surtout chez les plus jeunes (UNAIDS, 2017a). Tout ceci a fait que nous n'avons pas atteint la taille d'échantillon escomptée malgré un recrutement de 21 mois auprès de quatre structures sanitaires.

5.2. Retour et discussion sur l'objectif 1

L'étude de la mortalité dans cette cohorte de PVVIH naïves de TARV nous a permis de retrouver un taux d'incidence de décès élevé de 7,5/100 PA. Cette mortalité était plus

importante dans la strate de CD4 « 350-499 » par rapport à la strate de CD4 « ≥ 500 ». Notre étude est l'une des rares à établir une différence de mortalité aussi nette entre ces deux strates de CD4 en Afrique Subsaharienne. Trois études précédentes avaient rapporté des résultats discordants (Anglaret et al., 2012; Lewden et al., 2014; Masiira et al., 2014) avec des différences méthodologiques : elles avaient pris en compte le temps passé dans la strate d'intérêt et censuré les données à la mise sous TARV.

Nous avons également pu montrer que la mortalité était variable en fonction du sérotype viral : l'infection par le VIH-2 étant associée à une moindre mortalité que l'infection par le VIH-1 ou la coinfection VIH-1 + VIH-2. Ce qui est en accord avec la littérature scientifique existante (Alabi et al., 2003; Berry et al., 2002; Hansmann et al., 2005; Poulsen et al., 1997). La mortalité était plus importante chez les sujets coinfectés que chez les sujets mono-infectés VIH-1. Ce résultat n'est pas en faveur de l'hypothèse selon laquelle une inhibition de la progression de l'infection à VIH-1 par une coinfection à VIH-2 peut survenir comme précédemment rapporté (Esbjörnsson et al., 2012).

Dans cette étude, le niveau de $\beta 2m$ à l'entrée dans la cohorte était également associé à la mortalité à long terme aussi bien en cas d'infection par le VIH-1 que d'infection par le VIH-2. Ce qui confirme les résultats d'études précédentes qui, pour la plupart, étaient transversales ou portaient sur de faibles effectifs ou chez des PVVIH à un stade avancé d'immunodépression (Michel et al., 2000; Sousa et al., 2002; Ullum et al., 2000).

L'âge, le sexe et la période d'inclusion dans la cohorte n'ont pas modifié les effets observés.

5.2.1. Forces et faiblesses

Cette étude comporte plusieurs points forts notamment l'homogénéité de la population et la taille d'échantillon. Nous avons aussi pu recueillir des données sur une longue période en dehors d'un contexte de recherche, ce qui est rare en PRL. Cela offre des perspectives favorables pour la généralisation (Geng et al., 2010). Nous avons également utilisé une méthodologie moderne et rigoureuse (*competing risks estimations*) en considérant la mise sous TARV comme événement compétitif du décès (Bakoyannis et Touloumi, 2012; Coviello et May, 2004; Kim, 2007; Mugisha et al., 2014). Cette méthodologie constitue un point

important dans la mesure où elle surmonte les limites méthodologiques des études précédentes en fournissant des estimations plus valides dans ce cas de figure (Anglaret al., 2012; Lewden et al., 2014; Masiira et al., 2014). Par ailleurs, nous avons réalisé des analyses de sensibilité et des analyses de survie classique (Kaplan Meier et modèles de Cox) qui ont montré une fois de plus la stabilité de nos mesures d'association. Les résultats peuvent contribuer à informer les décisions de santé publique sur l'initiation du TARV; mais aussi sur le contrôle de l'AI chez les PVVIH naïves de TARV en Afrique Subsaharienne.

La principale faiblesse de cette étude a été de travailler sur les données d'une cohorte clinique déjà recueillies pour répondre à des questions de recherche avec tous les inconvénients en rapport. D'abord, nous n'avions pas la maîtrise sur la mesure des variables. Certaines variables d'intérêt n'ont pas pu être recueillies et de ce fait, cela a diminué la qualité de l'ajustement (confusion). Ensuite des modalités de suivi non standardisées ont pu mener à des erreurs de classification (biais d'information), ce qui survient lorsque les sujets les plus exposés bénéficient d'un meilleur suivi et d'une recherche plus assidue du critère du jugement (ou événement). Cependant dans notre étude un tel biais aurait un potentiel non différentiel puisque les variables d'exposition n'ont pas été collectées en connaissance du statut de mortalité à venir. Selon un tel scénario, les associations trouvées peuvent être sous-estimées avec une tendance vers la nulle. Par contre, ces modalités de suivi peuvent également être à l'origine d'importantes pertes au suivi qui, lorsque les raisons à l'origine sont liées à l'exposition et à l'événement, peuvent introduire un biais de sélection. Enfin une mauvaise qualité de recueil peut générer des données manquantes qui si, elles concernent l'exposition ou l'événement vont conduire à des analyses de sous-groupes avec potentiel biais de sélection. Si les données manquantes concernent les variables d'ajustement, la conséquence est essentiellement une confusion résiduelle du fait de l'absence d'ajustement sur ces variables. Ces différentes limites peuvent contribuer aussi bien à la survenue de biais de sélection, de biais d'information et de confusion.

Les données sur les causes de décès n'étaient pas disponibles non plus. Elles pourraient permettre d'évaluer la mortalité liée au VIH en plus de la mortalité globale. Cette dernière a été le critère de jugement principal de la presque totalité des études mais la mortalité liée au VIH fournirait également de l'information pertinente.

5.2.2. Biais de sélection

Le biais de sélection le plus probable dans cette étude de cohorte était en rapport avec les pertes au suivi. Une proportion de 31,06% de la population d'étude était PDV (perdu de vue) avec un potentiel biais de sélection. Pour évaluer ce biais éventuel, nous avons comparé leurs caractéristiques à celles de sujets non PDV. Les PDV étaient plus jeunes, avaient plus souvent un emploi, avaient un niveau d'éducation plus élevé et étaient plus souvent infectés par le VIH-2 (tableau 5 de l'article 1). Les procédures de l'étude avec des visites à domicile en cas de retard à la clinique permettaient de notifier les décès survenus à domicile. Il existait également des alternatives thérapeutiques (médecine traditionnelle et programmes de TARV dans les pays limitrophes). Pour toutes ces raisons, nous avons considéré qu'il était plus probable que les PDV soient des survivants que des décédés. Ce qui est conforme avec nos analyses de sensibilité. D'une part, en considérant tous les PDV comme survivants, les mesures d'association étaient très peu modifiées; d'autre part, en considérant tous les PDV comme décédés, nos mesures d'association étaient sous-estimées vers un effet nul (tableaux 6 à 11 de l'article 1).

L'association entre $\beta 2m$ et mortalité a été évaluée sur un sous-groupe de la population d'étude. Les facteurs qui sous-tendent la sélection de cette sous-population semblent tout à fait aléatoires (volume de sang prélevé et études réalisées sur les prélèvements). Ils étaient antérieurs à l'événement étudié et n'avaient aucun rapport avec la variable d'exposition (niveau de $\beta 2m$) minimisant la possibilité d'un biais de sélection.

5.2.3. Biais d'information

Parmi les expositions étudiées, les mesures utilisées ont évolué au cours du temps. Les techniques de réalisation de la sérologie VIH et de mesure du niveau de CD4 ont vu leurs performances être améliorées au cours du temps. La sérologie VIH a été refaite au cours du suivi pour éviter toute erreur de classification. Ce qui n'était pas possible avec les CD4. Nous avons aussi choisi d'utiliser le niveau plasmatique de $\beta 2m$ comme marqueur soluble de l'AI. Bien qu'il s'agisse d'un marqueur de l'AI systémique, la $\beta 2m$ est reconnue comme étant associée à la progression de l'infection à VIH. Son niveau plasmatique peut augmenter dans d'autres circonstances comme les hémopathies malignes et la maladie rénale. L'exclusion de

ces cas de figure aurait été judicieuse pour mieux évaluer cette association. Ces situations sont cependant rares en suivi ambulatoire et nos analyses ont été ajustées sur la clairance de la créatinine. Nous avons préféré la $\beta 2m$ aux marqueurs cellulaires (CD25, CD38, HLA-DR) qui certes sont plus spécifiques, mais ne peuvent pas être réalisés en routine dans les PRL. La $\beta 2m$ est très accessible techniquement et financièrement. Elle est faisable dans les environnements défavorisés d'où son intérêt en santé publique dans les PRL. Par ailleurs, dans l'analyse de sous-groupe, le niveau de $\beta 2m$ a été catégorisé en prenant la médiane comme point de coupure pour des raisons d'abord statistiques. La médiane de $\beta 2m$ qui était de 2,85 mg/L était au-dessus de la limite supérieure normale et avait en même temps une pertinence clinique. Plusieurs études suggèrent une bonne corrélation entre le niveau de $\beta 2m$ et les marqueurs cellulaires (Lambin et al., 1986; Leligdowicz et al., 2010; Pizzolo et al., 1992). Comme ces derniers, la $\beta 2m$ présente une corrélation positive avec la charge virale VIH et négative avec le niveau de CD4. Ces corrélations sont moins bonnes pour la $\beta 2m$ que pour les marqueurs cellulaires; d'où de possibles erreurs de classification. Il n'y a pas lieu de croire que les éventuelles erreurs de classification décrites ci-dessus étaient différentielles, car les mesures ont été réalisées indépendamment des hypothèses de l'étude. Elles entraîneraient au pire des cas une sous-estimation de nos mesures d'association (biais non différentiel).

5.2.4. Confusion

En l'absence de randomisation (supposée rendre comparables les différents groupes quant à la distribution des facteurs de confusion éventuels connus et inconnus), la confusion ne peut être exclue de notre étude de cohorte vu le devis observationnel. D'abord, il n'y a pas eu la possibilité d'ajuster pour d'éventuels facteurs de confusion comme l'IMC, le taux d'hémoglobine et la charge virale plasmatique. Bien que retrouvés comme confondants dans les premières études sur la mortalité des PVVIH en PRL, l'IMC et le taux d'hémoglobine n'ont pas été source de confusion dans des études plus récentes (Lodi et al., 2015; Nsanzimana et al., 2015). En effet, ils semblent être des proxys de la progression de la maladie et du déficit immunitaire qui sont mesurés de façon plus directe et précise par le niveau de CD4 et la charge virale. Quant à la variable charge virale, elle a été rarement étudiée dans cette population en PRL. Elle y a moins d'intérêt en PRL car elle n'est pas utilisée en routine dans l'évaluation des PVVIH naïves de TARV. De plus, les variables profession et niveau

d'éducation étaient renseignés pour environ 50% de la population alors que la variable stade clinique n'était renseigné que pour 21% de la population. Il peut aussi exister des facteurs de confusion non rapportés dans la littérature ou non mesurables qui nous restent inconnus. En résumé, malgré l'ajustement sur les facteurs de confusion éventuels à notre disposition, il peut subsister de la confusion résiduelle.

Nous ne pouvons pas non plus écarter un « lead-time bias » dans la mesure où nous ne disposons pas de l'information avant l'entrée dans la cohorte pour les sujets de la strate de CD4 « 350-499 ». Nous pouvons tout de même argumenter qu'au-delà de 350 CD4/ μ L, les événements cliniques sont très rares et que durant la période d'étude, le niveau de CD4 pour l'initiation du TARV était de 200/ μ L. Ce biais est très peu probable.

En dépit du potentiel de ces biais, nous avons constaté une stabilité de nos mesures d'association dans les différents sous-groupes et lors des analyses de sensibilité ce qui laisse présager de leur validité.

5.2.5. Validité externe

Notre étude de cohorte a porté sur une population de PVVIH gambiennes naïves de TARV avec un niveau de CD4 à l'entrée dans la cohorte $\geq 350/\mu$ L. Bien que les études portant sur de telles populations ne soient pas nombreuses en Afrique subsaharienne, les caractéristiques de notre cohorte sont similaires à celles retrouvées dans les autres études. Par exemple, 75% des PVVIH recrutées étaient des femmes. Dans les cohortes africaines, les proportions de femmes sont de plus en plus importantes (féminisation de l'épidémie) du fait des questions de genre; mais aussi d'une vulnérabilité sociale et biologique. D'autre part, le dépistage est plus fréquent chez les femmes notamment au cours de la grossesse. Les femmes sont également plus adhérentes aux soins et plus observantes au TARV. Concernant l'histoire naturelle, elle n'est pas dépendante du sexe et nos analyses ont été ajustées sur la variable sexe. Ce dernier n'était pas un facteur modificateur d'effet. Les modalités de suivi reflètent également les conditions de suivi des PVVIH naïves de TARV en PRL avec des proportions importantes de PDV; ainsi qu'un suivi assez irrégulier souvent conditionné par les événements intercurrents. Les résultats de cette étude devraient être généralisables dans les PRL et plus facilement en Afrique Subsaharienne.

5.3. Retour et discussion sur l'objectif 2

Nous avons utilisé un devis d'étude transversale analytique pour montrer que le niveau d'AIC des ESN était supérieur à celui des contrôles séronégatifs. Il était inférieur à celui des PVVIH mais la différence n'était pas statistiquement significative. L'ESVIH était associée à un niveau d'AIC élevé ($\geq 3^{\text{e}}$ quartile de la $\beta 2m$) aussi bien en termes d'existence que de fréquence. Par contre, il n'y avait pas d'association avec un niveau d'AIC modéré (\geq la médiane de la $\beta 2m$) qui était dans la limite des valeurs normales. Ces résultats semblent indiquer un seuil critique d'AIC qui déterminerait deux profils d'ESN : ceux ayant un niveau bas « immunoquiescents » qui ne semble pas être influencé par l'ESVIH, et ceux, « immunosusceptibles » ayant un niveau élevé chez qui l'AI est liée à l'ESVIH. *Une étude longitudinale sur une population importante d'ESN avec documentation rigoureuse des niveaux d'AI et de l'ESVIH permettrait de vérifier cette hypothèse.*

5.3.1. Forces et faiblesses

La limite principale de cette étude est en rapport avec son caractère transversal. Comme l'exposition et l'événement étudiés ont été mesurés en même temps, on ne peut établir clairement la séquence temporelle entre les deux. En effet, on ne peut pas être certain que l'ESVIH a précédé le niveau de $\beta 2m$ observé même si l'ESVIH a été recueillie sur la période des six mois avant l'étude. Par ailleurs, il faut être conscient que les individus inclus dans cette étude sont les personnes survivantes au moment de l'étude. Il est possible de faire ressortir des déterminants de la survie plutôt que des déterminants de l'événement d'intérêt. Une autre limite était liée à la taille de l'échantillon. En effet, parmi la centaine de couples sérodiscordants identifiée avant l'étude, une certaine proportion ne pouvait pas être incluse en raison du fait que le partenaire séropositif n'avait pas partagé l'information ou n'était pas en mesure de venir avec le partenaire séronégatif au site de recherche. Ce qui a réduit notre capacité de recrutement. Un échantillon plus important nous aurait permis d'avoir des estimations plus précises.

Néanmoins, nous avons la maîtrise sur les différentes mesures de l'exposition et de l'événement qui ont été mesurés de façon valide en utilisant des critères facilement accessibles et reproductibles notamment en PRL. Par ailleurs, il n'y a eu que très peu de données

manquantes. Et malgré les limites dans la capacité de recrutement, la taille d'échantillon de notre population fait partie des plus importantes parmi celles rapportées dans la littérature et cette population était homogène. Les mesures d'associations retrouvées en régression logistique ont aussi été confirmées par les résultats de la régression linéaire. L'étude a permis de générer des hypothèses sur l'ESVIH et l'AI avec d'une part les « immunoquiescents » et d'autre part les « immunosusceptibles » : ces deux profils présenteraient une relation différente avec l'ESVIH et probablement la susceptibilité à l'infection. Ce qui peut ouvrir des perspectives de recherche dans ce sens.

5.3.2. Biais de sélection

Notre population d'étude a été recrutée principalement à partir de la cohorte des CHSD du CHNU de Fann au niveau des deux services de référence dans la prise en charge des PVVIH de la capitale Dakar. De rares participants venaient des autres centres de prise en charge de la région de Dakar et de la région de Thiés (2^e ville du Sénégal située à 70 km de Dakar). Tous les CHSD ayant partagé l'information sollicités ont accepté de participer à l'étude assurant ainsi une bonne représentativité des CHSD informés qui sont préférentiellement suivis dans les sites de référence au Sénégal. Il faut tout de même noter qu'il existe des CHSD dont le partenaire infecté n'a pas partagé l'information avec son conjoint : ces CHSD ne pouvaient pas être inclus dans notre étude. Il est toujours possible que la sélection des participants inclus dans notre étude ait donné une mauvaise représentation de la mesure de l'association en raison d'un biais de sélection. Une autre source de biais de sélection est le fait que la population sur laquelle nous avons travaillé était constituée des CHSD ayant survécu et dont le partenaire séropositif est suivi en ambulatoire. On peut supposer que ces cas étaient cliniquement moins sévères. Nous n'avons donc pas inclus les cas les plus graves chez lesquels l'ESVIH est supposée être plus importante et les niveaux d'AIC plus élevés. Les conséquences potentielles sont une sous-estimation de notre mesure d'association.

5.3.3. Biais d'information

La variable d'exposition (ESVIH) était représentée par le nombre de rapports sexuels non protégés mesuré sur les six mois ayant précédé l'étude en prenant en compte les caractéristiques propres de l'ESN, les caractéristiques propres de son partenaire séropositif, l'activité sexuelle du couple et l'activité sexuelle hors couple. Cette mesure peut être sujette aux erreurs de mémoire. Elle peut également être sous-estimée du fait de la stigmatisation des rapports sexuels non protégés, des rapports sexuels anaux et des rapports sexuels hors couple. Les CHSD sont informés sur les risques de transmission et de surinfection ou de superinfection VIH. On leur conseille l'usage systématique du préservatif et des pratiques à moindre risque. La stigmatisation sociale et la crainte d'être jugé défavorablement par le personnel soignant auraient pu réduire la déclaration d'activités sexuelles particulièrement celles perçues comme non désirables. Pour minimiser ces mésestimations, ces informations étaient recueillies par un travailleur social et chaque partenaire a été évalué de manière individuelle. Malgré cela, si des erreurs de classification survenaient, elles devraient être non différentielles dans la mesure où les hypothèses postulées étaient inconnues des participants.

Dans certaines études, l'ESVIH de l'ESN a été mesurée par la charge virale plasmatique du partenaire séropositif et on a même exclu les ESN dont les CV des partenaires étaient indétectables (Suy al., 2017). Nous n'avons pas utilisé une telle mesure pour plusieurs raisons : 1) il existe des discordances entre la CV plasmatique et la CV séminale (Lambert-Niclot et al., 2010), 2) il a été prouvé que l'AI était possible chez les ESN même en cas de contrôle virologique chez le partenaire infecté (Kebba et al., 2004), 3) l'impossibilité de mesurer la CV plasmatique notamment chez un partenaire occasionnel infecté et de ce fait, la non-prise en compte de l'activité sexuelle hors couple qui peut être plus à risque 4) d'un point de vue de la santé publique, il est important d'identifier les ESN les plus à risque à partir des caractéristiques épidémiologiques en l'absence de paramètres biologiques sophistiqués comme la CV qui n'est pas disponible en routine dans les PRL.

La variable « événement » ou le critère de jugement (niveau de $\beta 2m$) a été initialement catégorisé en utilisant la médiane comme point de coupure mais cette valeur médiane était dans les limites de la normale. De ce fait, nous avons utilisé le 3^e quartile pour que le critère de jugement soit cliniquement pertinent. Néanmoins, le seuil critique de $\beta 2m$ dans cette

population reste à être déterminé. Par ailleurs, des mesures valides et reconnues des variables d'ajustement ont été utilisées.

5.3.4. Confusion

Tous les facteurs de confusion connus et mesurables à notre niveau ont été pris en compte. Il peut tout de même exister de la confusion résiduelle du fait de facteurs de confusion inconnus ou non mesurables ou encore en raison d'un ajustement imparfait.

5.3.5. Validité externe

Nous estimons que nos résultats ne sont valables que pour la population de CHSD informés (dont chacun des partenaires est informé du statut VIH sérodiscordant de l'autre partenaire) au Sénégal et dans la sous-région ouest africaine où les modalités de suivi de ces populations sont semblables. Nous ne pouvons garantir la validité de nos résultats chez les CHSD non informés : l'ESVIH est plus importante dans ces couples du fait d'une moindre perception du risque d'infection et des difficultés d'usage du préservatif pour ces couples. Les résultats sont probablement peu généralisables aux couples homosexuels sérodiscordants ou aux couples sérodiscordants des pays riches parce que les pratiques sexuelles, les niveaux d'AIC et les offres de soins sont très différents. Pour la $\beta 2m$, il a été proposé que les valeurs normales (de référence) se situent entre 0,73 et 3,81 mg/L mais les valeurs moyennes rapportées sont très différentes selon l'origine ethnique des populations et sont positivement corrélées à l'âge: les valeurs trouvées chez les populations brésiliennes (2,46 mg/L) et ougandaises (2,35 mg/L) sont supérieures à celles trouvées en Europe (1,66 mg/L) qui sont supérieures à celles trouvées aux États-Unis d'Amérique (1,36 mg/L pour les blancs et 1,28 mg/L pour les noirs) (Piwowar et al., 1995; Filippin et al., 2005; Mátrai et al., 2009; Matoković et al., 2011; Diamondstone et al., 1994). Nous n'avons pas trouvé d'autres cohortes de CSD où la B2M a été étudiée.

5.4. Retour et discussion sur l'objectif 3

Pour répondre à la question de recherche correspondante, nous avons mené une étude transversale pour évaluer l'association entre une précédente VCV et le niveau d'AIC chez des

PVVIH sénégalaises naïves de TARV. A l'issue de cette étude, nous n'avons pas retrouvé d'association en régression logistique, encore moins en régression linéaire.

5.4.1. Forces et faiblesses

Les limites de cette étude sont celles inhérentes à toute étude transversale décrites au chapitre 5.3.1. La faible taille de l'échantillon constitue une limite supplémentaire, car elle ne permettait de mettre en évidence qu'un $OR \geq 4$ avec une puissance de 80% et une erreur de première espèce de 5% en test bilatéral. Malgré qu'on avait établi une taille d'échantillon plus élevée lors de l'élaboration du protocole, des difficultés sur le terrain ont limité le recrutement des participants, ce qui a diminué la puissance de l'étude. Il s'y ajoute le fait de travailler sur une exposition survenue il y a plusieurs dizaines d'années avec une mesure concurrentielle de l'événement ce qui rend les hypothèses difficiles à asseoir et à confirmer. Cet objectif est exploratoire et bien qu'on n'ait pas trouvé d'association entre la présence de cicatrice de VCV et le niveau de $\beta 2m$, nos données ne nous permettent pas d'affirmer de façon formelle l'absence d'association entre une précedence VCV et la progression de l'infection à VIH.

Parmi les points forts, nous pouvons citer une population homogène, un recueil de toutes les variables souhaitées, un nombre négligeable de données manquantes et des mesures d'association qui restent dans le même sens et peu modifiées dans les analyses de sensibilité. Ces analyses ont consisté à 1) exclure les participants qui présentaient une cicatrice de BCG, 2) comparer ceux qui présentaient une cicatrice de BCG + une cicatrice de VCV à ceux qui ne présentaient aucune cicatrice, 3) comparer ceux qui présentaient au moins deux cicatrices de VCV à ceux qui n'en présentaient pas.

5.4.2. Biais de sélection

Notre recrutement a été fait à partir des deux centres de prise en charge de référence ayant les plus grandes files actives, à partir d'un centre communautaire ayant également la plus grande file active et du centre national de transfusion sanguine. D'autre part, sur les 105 candidats sollicités, seuls quatre cas de refus ont été notés. Un biais de sélection ne peut cependant pas être totalement écarté dans ce type d'étude.

5.4.3. Biais d'information

La variable d'exposition (VCV) était attestée par la présence d'une cicatrice caractéristique. Cette cicatrice présente des particularités et a été recherchée de façon indépendante par deux cliniciens formés afin de minimiser les erreurs de classification. Cependant, il n'existe pas de caractéristique pathognomonique de cette cicatrice et elle peut être confondue avec une cicatrice de BCG ou d'un autre type. En plus, la présence de cette cicatrice caractéristique n'indique pas nécessairement le développement d'une réponse immunitaire robuste et protectrice (Kennedy et al., 2016). La confrontation de cette mesure avec l'information recueillie sur les carnets de vaccination ou sur les registres de vaccination pourrait donner plus de fiabilité à cette mesure mais ni les carnets, ni les registres n'étaient disponibles. De ce fait, des erreurs de classification étaient possibles mais devraient être non différentielles. Le dosage de la $\beta 2m$ a été réalisé dans un laboratoire externe tout à fait indépendant de l'étude et sans aucune information sur les hypothèses. Ces potentielles erreurs auraient aussi pour conséquence une sous-estimation de la mesure d'association.

La variable « événement » ou critère de jugement (niveau de $\beta 2m$) a été étudiée avec deux points de coupure : la médiane et le 4^e quintile qui étaient au-dessus des limites normales pour s'assurer de l'absence d'association entre la VCV et l'AIC dans cette population.

Certaines variables d'ajustement utilisées comme les caractéristiques socioéconomiques ont été recueillies au moment de la collecte des données alors que l'ajustement sur ces caractéristiques au moment de la VCV aurait également été pertinent.

5.4.4. Biais de publication

Nous n'avons pas trouvé d'association entre la VCV et le niveau d'AIC dans notre population d'étude. Nous n'avons pas trouvé d'étude similaire dans la littérature. Toutes les études publiées sur l'association entre VCV et morbidité ou mortalité ont trouvé une association positive. Nous ne pouvons pas exclure un biais de publication bien qu'il nous soit impossible de le prouver. Dans tous les cas, les études rapportant des résultats positifs ont plus de chance d'être publiées contrairement aux études de qualité rapportant des résultats négatifs (Canestaro et al., 2017; Lynch et al., 2007).

5.4.5. Confusion

Tous les facteurs de confusion connus et mesurables à notre niveau ont été pris en compte. Il peut tout de même exister de la confusion résiduelle du fait de facteurs de confusion inconnus ou non mesurables; ou d'un ajustement imparfait.

5.4.6. Validité externe

Du fait des contraintes imposées par les recommandations OMS, les PVVIH naïves de TARV sont devenues rares mais nous estimons que la population de l'étude est représentative. Nos résultats devraient être applicables aux pays d'Afrique Subsaharienne dans lesquels la VCV était administrée selon les mêmes modalités qu'au Sénégal (vaccination de masse puis en cercle autour des cas jusque vers 1980) et où des niveaux d'AIC élevés similaires à ceux observés au Sénégal sont retrouvés : c'est le cas de l'Afrique occidentale. Nous doutons que ces résultats soient valides au-delà de cette zone géographique du fait des différences importantes dans l'épidémiologie de l'infection à VIH, dans les niveaux d'AIC et dans les modalités de la VCV.

6. Conclusion

L'épidémie du VIH/sida demeure l'un des plus grands problèmes de santé publique que le monde a connus. Elle a fait l'objet d'une mobilisation politique, sociétale, culturelle et financière sans précédent. L'avènement des TARV en 1996 a été à l'origine de progrès importants qui permettent d'envisager de mettre fin à l'épidémie de VIH/sida à l'horizon 2030. Et ceci, malgré un million de décès et 1,8 million de nouvelles infections survenus en 2016 surtout dans les PRL. L'Afrique subsaharienne supporte à elle seule 75% du fardeau de l'épidémie pour 13% de la population mondiale. À cet important problème de santé publique s'ajoute une insuffisance de données épidémiologiques de qualité. L'étude approfondie de tous les déterminants de l'épidémie en Afrique Subsaharienne permet de rassembler des données probantes utiles à mieux orienter la réponse. Ceci est d'autant plus valable en Afrique de l'Ouest que cette région connaît un retard important sur le reste du continent en termes de progrès dans la lutte contre cette épidémie. Cette thèse s'inscrit dans ce cadre en ayant étudié la mortalité et l'AIC chez les PVVIH naïves de TARV au Sénégal et en Gambie. Elle a pu produire différentes données cliniques à travers trois études.

La première étude de cohorte a mis en évidence l'effet du niveau de CD4, du sérotype viral et du niveau d'AIC sur la mortalité des PVVIH naïves de TARV. Elle suggère qu'une initiation plus précoce du TARV notamment à un niveau de $CD4 \geq 500/\mu L$ en accord avec les recommandations de l'OMS de 2016 réduirait la mortalité. Ces recommandations ont été établies sur la base d'ECR dont les résultats sont associés au plus haut niveau de preuve dans le système de cotation GRADE (Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation) utilisé par l'OMS pour établir ses lignes directrices. Un de ces essais (TEMPRANO) a eu lieu en Côte d'Ivoire en Afrique occidentale. Il n'en suit pas que ces résultats seraient reproductibles au niveau des PVVIH ivoiriennes suivies dans le système de santé dans la mesure où les conditions de réalisation des essais cliniques sont très différentes des conditions réelles. Plusieurs facteurs en rapport avec le système de santé, les ressources humaines et les patients vont contribuer à diluer les effets observés dans les ECR et il est important de les prendre en compte. C'est à ce titre que les résultats de notre étude réalisée dans les conditions réelles peuvent avoir des retombées importantes en santé publique. D'une

part, ils confirment non seulement les recommandations de l'OMS basées sur un bénéfice clinique et préventif à initier le TARV pour toute PVVIH, mais aussi les appuient en mettant en évidence un bénéfice sur la mortalité, ce que n'étaient pas parvenus à montrer les ECR. D'autre part, ils rassurent les décideurs sur l'utilité et la pertinence d'adopter les recommandations de l'OMS, car nous démontrons un bénéfice clinique dans un contexte réel en PRL. La prise en charge du VIH/sida dans les PRL est habituellement conditionnée par les recommandations de l'OMS. Ces dernières font l'objet de critiques en raison de leurs limites qui réduisent leur efficience, ce qui pourrait d'ailleurs être la cause des échecs de mise en œuvre dans les PRL. Un exemple de ces limites est le passage direct d'interventions validées par des ECR à leur mise en œuvre dans les systèmes de santé des PRL, où les conditions sont très différentes. En plus de l'évidence clinique ou épidémiologique produite par les ECR, ces recommandations devraient davantage se baser sur de l'évidence en santé publique (Bigna JJ et al, 2016). À ce titre, les phases d'extension « open label extension (OLE) » ayant fait suite aux essais sur la prophylaxie pré exposition (PrEP) peuvent être un exemple de transition entre les ECR et l'implémentation d'interventions de santé publique basées sur les ECR dans les PRL. Le renforcement des systèmes sanitaires devrait également être priorisé pour permettre des évaluations rigoureuses des interventions ainsi que la pérennisation des acquis. Dans la perspective d'atteindre les « 90-90-90 » d'ici 2020, l'initiation plus précoce du TARV améliorera le 2^e 90 en PRL mais il ne faut pas perdre de vue le fait que l'efficacité absolue des programmes dépend avant tout du 1^{er} 90 pour lequel l'Afrique occidentale est très en retard (Rodger AJ et Sabin CA, 2016). Des interventions devraient être privilégiées dans ce sens.

Notre étude a également trouvé que la mortalité variait en fonction du sérotype VIH et que la coinfection VIH-1 + VIH-2 est associée à une mortalité plus élevée que la monoinfection VIH-1. L'évolution naturelle de la coinfection semble plus rapide que celle des monoinfections. Les individus coinfectés devraient donc être mis sous TARV selon les mêmes critères que les PVVIH-1 voire à un stade plus précoce en Afrique de l'Ouest. L'adoption des recommandations de l'OMS de 2016 réglerait de facto cette problématique.

L'analyse de l'association entre le niveau d'AIC et la mortalité permet de produire des données rares en PRL avec de potentielles retombées en santé publique. La β_2m a montré, dans certaines études, une valeur pronostique supérieure, sinon égale à celle du niveau de CD4

chez certaines populations. La $\beta 2m$ a l'avantage d'être à moindre coût, réalisable dans des conditions très défavorisées et même sur des échantillons de sang congelés, ce qui n'est pas le cas des cellules CD4 et CD8 qui doivent être dosés dans une fenêtre de temps très courte. Son rôle pronostique devrait être mieux évalué surtout dans un contexte de transition d'un monitoring basé sur les CD4 vers un monitoring basé sur la CV dans la plupart des PRL. Il est maintenant admis que chez les PVVIH sous TARV et contrôlées, la morbidité et la mortalité sont essentiellement dues aux événements non classant sida avec un rôle important de l'AIC. Des thérapies pour contrôler l'AIC sont maintenant envisagées chez les PVVIH et nos résultats pourraient servir à mieux identifier les indications de ces thérapies.

Notre deuxième étude a montré que les ESN des CHSD ont des niveaux d'AI statistiquement plus élevés que ceux des contrôles séronégatifs. Ces niveaux étaient inférieurs à ceux des PVVIH mais la différence n'était pas statistiquement significative. Elle a montré par ailleurs une association entre l'ESVIH et un niveau d'AIC élevé mais pas avec un niveau d'AIC modéré dans les limites de la normale. Les caractéristiques de cette population en font des cibles privilégiées pour l'identification des corrélats de protection ou de susceptibilité par rapport à l'infection à VIH. Le devis d'étude transversale nous a permis d'identifier deux profils d'ESN dans cette population. Ceci ouvre la perspective à une étude longitudinale pour tester l'hypothèse que ces deux profils correspondent à des évolutions cliniques différentes. Cette étude pose évidemment le problème des études transversales en épidémiologie qui ne peuvent établir des relations causales que pour des facteurs innés comme le sexe ou les caractéristiques génétiques. La problématique que nous avons abordée dans cette étude pourrait avoir des implications importantes en santé publique si elle permettait d'identifier des personnes ou des situations à risque à partir de l'exposition et de l'événement étudiés. C'est pour cette raison que nous avons choisi des mesures fiables mais simples et facilement reproductibles même dans les PRL pour l'exposition et l'événement d'intérêt.

Notre 3^e étude, également transversale, n'a pas établi de relation entre la VCV et le niveau d'AIC. Cette étude a connu deux problèmes méthodologiques : un faible échantillon qui ne permettait de montrer qu'un effet relativement important ($OR \geq 4$) mais aussi une mesure de l'exposition qui n'est pas validée. Toutefois, c'est cette mesure qui a été utilisée dans les études épidémiologiques antérieures réalisées en Afrique et les dispositions prises

(formation, double évaluation indépendante) permettaient de minimiser les erreurs en rapport. On ne peut tout de même pas écarter totalement ces erreurs qui seraient non différentielles et contribueraient à rapprocher notre mesure d'effet de l'hypothèse nulle.

Tous les résultats n'ont pas été obtenus sans les difficultés abordées dans la section 5.1. Pour faire face à ces difficultés, les stratégies mises en œuvre ont été des opportunités notamment d'acquérir du savoir-faire non seulement en termes de mise en place et de gestion d'études; mais également en termes d'analyses de sensibilité et de modélisation. Par ailleurs, dans toutes ces études, nous avons été animés par un souci d'applicabilité et d'opérationnalisation des résultats. C'est pour ceci que nous avons privilégié des déterminants ayant un intérêt en SP dans les PRL plutôt que des mesures sophistiquées utilisées uniquement dans les contextes de recherche. Une telle démarche devrait permettre une utilisation plus rapide des données de la recherche en pratique clinique. Les études observationnelles de qualité devraient également le permettre. Ceci est d'autant plus vrai pour l'infection à VIH qu'il persiste des inconnues dans son étiopathogénie et dans les effets des thérapies utilisées. En l'absence d'un vaccin efficace (prophylactique ou thérapeutique) et de cure, nous parlons d'une maladie chronique nécessitant un traitement à vie. Des problématiques nouvelles en rapport avec le virus, les traitements, les interventions et les politiques vont émerger et nécessiter une réponse rapide et efficace pour que la qualité de vie des PVVIH continue à être améliorée. Parmi les éléments qui pourraient permettre une réponse rapide et efficace, il y a les études observationnelles ayant un niveau de preuve suffisant et des données de qualité. Pour ce faire, les grosses cohortes « historiques » de PVVIH devraient être maintenues avec un suivi rigoureux pour pouvoir répondre aux questions émergentes de la prise en charge du VIH dans la durée. Ce qui ne peut se faire sans une collaboration étroite des PVVIH, des décideurs, des chercheurs et des cliniciens qui peuvent tous en tirer profit. En plus des données épidémiologiques et cliniques, les banques de données biologiques pourraient être mises à contribution, bien entendu si les enjeux éthiques qui les concernent sont résolus.

En étudiant la mortalité et l'activation immunitaire chronique en Afrique de l'Ouest, nous avons pu mettre le doigt sur des problèmes criards concernant le recueil et l'archivage des données populationnelles et de cohorte. Des données aussi importantes que les registres de vaccination n'étaient pas disponibles au Sénégal et l'exploitation des données de la cohorte

clinique gambienne a été très difficile. Par exemple, le débat sur l'initiation du TARV pour toute PVVIH y est soulevé depuis quelques années et y est encore d'actualité. Il a fallu attendre les résultats des ECR pour proposer des recommandations en faveur alors que des données de cohorte auraient pu fournir des éléments de réponse plus rapidement. Pour cela, il aurait fallu une plus grande qualité de ces données ; qualité qu'il semble difficile de produire en PRL. Pourtant, près de trois quarts des PVVIH se trouvent en Afrique Subsaharienne et des projets de recherche de grande envergure notamment des ECR y sont menés dans le respect strict de tous les standards de qualité. Les politiques issues de ces études connaissent parfois des échecs dans leur mise en œuvre notamment du fait des différences importantes entre les contextes de telles recherches et les systèmes de santé qui sont appelés à mettre en œuvre ces politiques dans les PRL. C'est ainsi que les études observationnelles comme la nôtre pourraient être utiles en apportant un niveau de preuve satisfaisant avec une bonne validité externe. Ce qui facilite l'application des politiques qui en découlent dans les systèmes de santé. De ce fait, des efforts importants devraient être fournis dans ce sens pour que la recherche bénéficie d'abord et avant tout aux participants à la recherche et, plus globalement, aux patients concernés.

7. Bibliographie

- Aaby, P., Gustafson, P., Roth, A., Rodrigues, A., Fernandes, M., Sodemann, M., ... Jensen, H. (2006). Vaccinia scars associated with better survival for adults. An observational study from Guinea-Bissau. *Vaccine*, 24(29-30), 5718-25.
- Aaby, P., Poulsen, A.G., Larsen, O., Christiansen, C.B., Jensen, H., Melbye, M., ... Dias F. (1997). Does HIV-2 protect against HIV-1 infection? *AIDS*, 11(7), 939-940.
- Abdulhaqq, S. A., Zorrilla, C., Kang, G., Yin, X., Tamayo, V., Seaton, K. E., ... Montaner L. J. (2016). HIV-1-negative female sex workers sustain high cervical IFN ϵ , low immune activation, and low expression of HIV-1-required host genes. *Mucosal Immunology*, 9(4), 1027-38.
- Alabi, A. S., Jaffar, S., Ariyoshi, K., Blanchard, T., Schim van der Loeff, M., Awasana, A. A., ... Whittle, H. (2003). Plasma viral load, CD4 cell percentage, HLA and survival of HIV-1, HIV-2, and dually infected Gambian patients. *AIDS*, 17(10), 1513-20.
- AmfAR et AVAC (2013). Action Agenda to End AIDS: Where are we in realizing the promise of beginning to end AIDS ? Available at : http://www.amfar.org/uploadedFiles/_amfarorg/Articles/On_The_Hill/2013/Ending%20AIDS%20Sept%202013.pdf. Accessed December 14, 2017.
- Amirayan-Chevillard. N., Tissot-Dupont, H., Obadia, Y., Gallais, H., Mege, J. L. et Capo. C. (2000). Highly active antiretroviral therapy (HAART) and circulating markers of immune activation: specific effect of HAART on neopterin. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 7(5), 832-4.
- Amorosa, V. K. et Isaacs, S. N. (2003). Separate worlds set to collide: smallpox, vaccinia virus vaccination, and human immunodeficiency virus and acquired immunodeficiency syndrome. *Clinical Infectious Diseases*, 37(3), 426-32.
- Amuron, B., Namara, G., Birungi, J., Nabiryo, C., Levin, J., Grosskurth, H., ... Jaffar S. (2009). Mortality and loss-to-follow-up during the pre-treatment period in an antiretroviral therapy programme under normal health service conditions in Uganda. *BMC Public Health*, 11(9), 290. doi: 10.1186/1471-2458-9-290
- Anderson, R. E., Lang, W., Shiboski, S., Royce, R., Jewell, N. et Winkelstein, W. Jr. (1990). Use of beta 2-microglobulin level and CD4 lymphocyte count to predict development

- of acquired immunodeficiency syndrome in persons with human immunodeficiency virus infection. *Archives of Internal Medicine*, 150(1), 73-7.
- Andersson, S., Norrgren, H., da Silva, Z., Biague, A., Bamba, S., Kwok, S., ... Albert, J. (2000). Plasma viral load in HIV-1 and HIV-2 singly and dually infected individuals in Guinea-Bissau, West Africa: significantly lower plasma virus set point in HIV-2 infection than in HIV-1 infection. *Archives of Internal Medicine*, 160(21), 3286–3293.
- Anglaret, X., Minga, A., Gabillard, D., Ouassa, T., Messou, E., Morris, B., ... ANRS 12222 Morbidity/Mortality Study Group (2012). AIDS and non-AIDS morbidity and mortality across the spectrum of CD4 cell counts in HIV-infected adults before starting antiretroviral therapy in Cote d'Ivoire. *Clinical Infectious Diseases*, 54(5), 714-23.
- Anglemyer, A., Rutherford, G. W., Easterbrook, P. J., Horvath, T., Vitória, M., Jan, M. et Doherty, M. C. (2014). Early initiation of antiretroviral therapy in HIV-infected adults and adolescents: a systematic review. *AIDS*, 28(Suppl 2), S105-18.
- Appay V. et Sauce D. (2008). Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *The Journal of pathology*, 214(2), 231-41.
- Armah, K. A., McGinnis, K., Baker, J., Gibert, C., Butt, A. A., Bryant, K. J., ... Freiberg, M. (2012). HIV status burden of comorbid disease and biomarkers of inflammation, altered coagulation, and monocyte activation. *Clinical infectious Diseases*, 55(1), 126-136.
- Asiki, G., Reniers, G., Newton, R., Baisley, K., Nakiyingi-Miir, J., Slaymaker, E., ... Kamali, A. (2016). Adult life expectancy trends in the era of antiretroviral treatment in rural Uganda (1991-2012). *AIDS*, 30(3), 487-93.
- Azevedo-Pereira, J. M. et Santos-Costa, Q. (2016). HIV Interaction With Human Host: HIV-2 As a Model of a Less Virulent Infection. *AIDS Reviews*, 18(1), 44-53.
- Babiker, A. G., Emery, S., Fätkenheuer, G., Gordin, F. M., Grund, B., Lundgren, J. D., ... INSIGHT START Study Group (2013). Considerations in the rationale, design and methods of the Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment (START) study. *Clinical Trials*, 10(1 Suppl), S5-S36.
- Badri, M., Lawn, S. D. et Wood, R. (2006). Short-term risk of AIDS or death in people infected with HIV-1 before antiretroviral therapy in South Africa: a longitudinal study. *The Lancet*, 368(9543), 1254-9.

- Baeten, J. M., Donnell, D., Ndase, P., Mugo, N. R., Campbell, J. D., Wangisi, J., ... Partners PrEP Study Team (2012). Antiretroviral prophylaxis for HIV prevention in heterosexual men and women. *The New England Journal of Medicine*, 367(5), 399-410.
- Balagopal, A., Gupte, N., Shivakoti, R., Cox, A. L., Yang, W.-T., Berendes, S., ... Gupta, A. (2016). Continued Elevation of Interleukin-18 and Interferon- γ After Initiation of Antiretroviral Therapy and Clinical Failure in a Diverse Multicountry Human Immunodeficiency Virus Cohort. *Open Forum Infectious Diseases*, 3(3), ofw118. <http://doi.org/10.1093/ofid/ofw118>
- Baker, J. V. (2013). Chronic HIV Disease and Activation of the Coagulation System. *Thrombosis Research*, 132(5), 495–499. <http://doi.org/10.1016/j.thromres.2013.08.016>
- Bakoyannis, G. et Touloumi, G. (2012). Practical methods for competing risks data: a review. *Statistical Methods in Medical Research*, 21(3), 257-72.
- Bassett, I. V., Wang, B., Chetty, S., Mazibuko, M., Bearnot, B., Giddy, J., ... Freedberg, K. A. (2009). Loss to Care and Death Before Antiretroviral Therapy in Durban, South Africa. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 51(2), 135–139.
- Bass E., Donaldson E. dL., Fisher K., Warren M. (2017). The tipping point: moving from rhetoric to real milestones for ending AIDS. Available at: <https://www.avac.org/sites/default/files/infographics/TippingPointPosterR4P.pdf>. Accessed December 14, 2017.
- Bégaud, E., Chartier, L., Marechal, V., Ipero, J., Léal, J., Versmisse, P., ... Pancino, G. (2006). Reduced CD4 T cell activation and in vitro susceptibility to HIV-1 infection in exposed uninfected Central Africans. *Retrovirology*, 3, 35. <http://doi.org/10.1186/1742-4690-3>
- Beignon, A.-S., McKenna, K., Skoberne, M., Manches, O., DaSilva, I., Kavanagh, D. G., ... Bhardwaj, N. (2005). Endocytosis of HIV-1 activates plasmacytoid dendritic cells via Toll-like receptor–viral RNA interactions. *Journal of Clinical Investigation*, 115(11), 3265–3275.
- Bernier G. M. and Fanger M. W. (1972). Synthesis of 2 -microglobulin by stimulated lymphocytes. *The Journal of Immunology*, 109(2), 407-9.

- Berry, N., Ariyoshi, K., Jaffar, S., Sabally, S., Corrah, T., Tedder, R., et Whittle, H. (1998). Low peripheral blood viral HIV-2 RNA in individuals with high CD4 percentage differentiates HIV-2 from HIV-1 infection. *Journal of Human Virology*, 1(7), 457-68.
- Berry N., Jaffar S., Schim van der Loeff M., Ariyoshi K., Harding E., N'Gom P.-T., ... Whittle H. (2002). Low level viremia and high CD4% predict normal survival in a cohort of HIV type-2-infected villagers. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 18(16), 1167-73.
- Biasin, M., Caputo, S.-L., Speciale, L., Colombo, F., Racioppi, L., Zagliani, A., ... Clerici, M. (2000). Mucosal and systemic immune activation is present in human immunodeficiency virus-exposed seronegative women. *The Journal of Infectious Diseases*, 182(5), 1365-74.
- Bigna, J. J. R., Plottel, C. S., & Koulla-Shiro, S. (2016). Challenges in initiating antiretroviral therapy for all HIV-infected people regardless of CD4 cell count. *Infectious Diseases of Poverty*, 5(1), 85. <http://doi.org/10.1186/s40249-016-0179-9>
- Braitstein, P., Brinkhof, M. W., Dabis, F., Schechter, M., Boule, A., Miotti, P., ... Egger, M. (2006). Mortality of HIV-1-infected patients in the first year of antiretroviral therapy: comparison between low-income and high-income countries. *The Lancet*, 367(9513), 817-24.
- Brenchley, J. M., Karandikar, N. J., Betts, M. R., Ambrozak, D. R., Hill, B. J., Crotty, L. E., Casazza, J. P., Kuruppu, J., Migueles, S. A., Connors, M., Roederer, M., Douek, D. C., & Koup, R. A. (2003). Expression of CD57 defines replicative senescence and antigen-induced apoptotic death of CD8+ T cells. *Blood*, 101(7), 2711-2720.
- Brenchley, J. M., Schacker, T. W., Ruff, L. E., Price, D. A., Taylor, J. H., Beilman, G. J., ... Douek, D. C. (2004). CD4+ T Cell Depletion during all Stages of HIV Disease Occurs Predominantly in the Gastrointestinal Tract. *The Journal of Experimental Medicine*, 200(6), 749–759.
- Brenchley, J. M., Price, D. A., Schacker, T. W., Asher, T. E., Silvestri, G., Rao, S., ... Douek, D. C. (2006). Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature Medicine*, 12(12), 1365-71.

- Brenchley, J. M., Paiardini, M., Knox, K. S., Asher, A. I., Cervasi, B., Asher, T. E., ... Douek, D. C. (2008). Differential Th17 CD4 T-cell depletion in pathogenic and nonpathogenic lentiviral infections. *Blood*, 112(7), 2826–2835.
- Brenchley, J. M., & Douek, D. C. (2012). Microbial Translocation Across the GI Tract. *Annual Review of Immunology*, 30, 149–173.
- Bygum, T., Gideon, K., Janne, E., Holger, P., Møller, J., Moestrup, S. K., ... Benfield T. (2016). Plasma Soluble CD163 Level Independently Predicts All-Cause Mortality in HIV-1–Infected Individuals. *Infectious Diseases*, 214 (8), 1198-1204.
- Camara, M., Dieye, T. N., Seydi, M., Diallo, A. A., Fall, M., Diaw, P. A., ... Jennes W. (2010). Low-level CD4+ T cell activation in HIV-exposed seronegative subjects: influence of gender and condom use. *The Journal of Infectious Diseases*, 201(6), 835-42.
- Canestaro, W. J., Hendrix, N., Bansal, A., Sullivan, S. D., Devine, E. B. et Carlson, J. J. (2017). Favorable and Publicly-Funded Studies are More Likely to be Published: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Epidemiology*, S0895-4356(17), 30134-8.
- Card, C. M., Ball, T. B. et Fowke, K. R. (2013). Immune Quiescence: a model of protection against HIV infection. *Retrovirology*, 20;10(1):141.
- Card, C. M., McLaren, P. J., Wachihi, C., Kimani, J., Plummer, F. A. et Fowke, K. R. (2009). Decreased immune activation in resistance to HIV-1 infection is associated with an elevated frequency of CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells. *The Journal of Infectious Diseases*, 199(9), 1318-22.
- CASCADE Collaboration Project (2010). Effect of ignoring the time of HIV seroconversion in estimating changes in survival over calendar time in observational studies: results from CASCADE. *AIDS*, 14(13), 1899-906.
- Catalfamo, M., Wilhelm, C., Tcheung, L., Proschan, M., Friesen, T., Park, J. H., ... Lane, C. (2011). CD4 and CD8 T cell immune activation during chronic HIV infection: roles of homeostasis, HIV, type I IFN, and IL-7. *The Journal of Immunology*, 186(4), 2106-16.
- Chege, D., Chai, Y., Huibner, S., Kain, T., Wachihi, C., Kimani, M., ... Kaul, R. (2012). Blunted IL17/IL22 and Pro-Inflammatory Cytokine Responses in the Genital Tract and

- Blood of HIV-Exposed, Seronegative Female Sex Workers in Kenya. *PLoS ONE*, 7(8), e43670. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0043670>
- Chemaitelly, H., Cremin, I., Shelton, J., Hallett, T. B., & Abu-Raddad, L. J. (2012). Distinct HIV discordancy patterns by epidemic size in stable sexual partnerships in sub-Saharan Africa. *Sexually Transmitted Infections*, 88(1), 51–57.
- Clayton, F., Snow, G., Reka, S., & Kotler, D. P. (1997). Selective depletion of rectal lamina propria rather than lymphoid aggregate CD4 lymphocytes in HIV infection. *Clinical and Experimental Immunology*, 107(2), 288–292.
- Cohen, K. W. et Frahm, N. (2017). Current views on the potential for development of a HIV vaccine. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 17(3), 295-303.
- Cohen, M. S., Chen, Y. Q., McCauley, M., Gamble, T., Hosseinipour, M. C., Kumarasamy, N., ... HPTN 052 Study Team. (2016). Antiretroviral Therapy for the Prevention of HIV-1 Transmission. *The New England Journal of Medicine*, 375(9), 830–839.
- Cole, S. R., Hernán, M. A., Anastos, K., Jamieson, B. D. et Robins, J. M. (2007). Determining the effect of highly active antiretroviral therapy on changes in human immunodeficiency virus type 1 RNA viral load using a marginal structural left-censored mean model. *American Journal of Epidemiology*, 166(2), 219-27.
- Cole, S. R., Li, R., Anastos, K., Detels, R., Young, M., Chmiel, J. S. et Muñoz, A. (2004). Accounting for leadtime in cohort studies: evaluating when to initiate HIV therapies. *Statistics in Medicine*, 23(21), 3351-63.
- Corrao, S., Prestileo, T. et Di Lorenzo, F. (2016). Antiretroviral Therapy in Early HIV Infection. *The New England Journal of Medicine*, 374(4), 393-4.
- Costagliola D. (2014). Demographics of HIV and aging. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 9(4), 294-301.
- Coviello, V. et May, B. (2004). Cumulative incidence estimation in the presence of competing risks. *The Stata Journal*, 4 (2): 103-112.
- Crotty, S., Felgner, P., Davies, H., Glidewell, J., Villarreal, L. et Ahmed, R. (2003). Cutting Edge: Long-Term B Cell Memory in Humans after Smallpox Vaccination. *The Journal of Immunology*, 171(10), 4969-4973.
- Crowell, T. A., Ganesan, A., Berry, S. A., Deiss, R. G., Agan, B. K., Okulicz, J. F., & for the Infectious Disease Clinical Research Program (IDCRP) HIV Working Group. (2016).

- Hospitalizations among HIV controllers and persons with medically controlled HIV in the U.S. Military HIV Natural History Study. *Journal of the International AIDS Society*, 19(1), 20524. <http://doi.org/10.7448/IAS.19.1.20524>
- Day, C. L., Kaufmann, D. E., Kiepiela, P., Brown, J. A., Moodley, E. S., Reddy, S., ... Walker, B. D. (2006). PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature*, 443(7109), 350-4.
- De Silva, T., Leligidowicz, A. et Rowland-Jones S. (2010). Effect of HIV-2 infection on HIV-1 disease progression. *The New England Journal of Medicine*, 367(20), 1961-2; author reply 1962-3.
- De Silva, T., van Tienen, C., Rowland-Jones, S. et Cotton, M. (2010). Dual infection with HIV-1 and HIV-2: double trouble or destructive interference? *HIV Therapy*, 4(3), 305–323.
- De Silva, T. I., Cotton, M. et Rowland-Jones S. L. (2008). HIV-2: the forgotten AIDS virus. *Trends in Microbiology*, 16(12), 588-95.
- Demkowicz, W. E. Jr., Littaua, R. A., Wang, J. et Ennis, F. A. (1996). Human cytotoxic T-cell memory: long-lived responses to vaccinia virus. *Journal of Virology*, 70(4), 2627-31.
- Diamondstone, L. S., Tollerud, D. J., Fuchs, D., Wachter, H., Brown, L. M., Maloney, E., ... Blattner, W. A. (1994). Factors influencing serum neopterin and beta 2-microglobulin levels in a healthy diverse population. *Journal of Clinical Immunology*, 14(6), 368-74.
- Doisne, J. M., Urrutia, A., Lacabartz-Porret, C., Goujard, C., Meyer, L., Chaix, M. L., ... Venet, A. (2004). CD8⁺ T cells specific for EBV, cytomegalovirus, and influenza virus are activated during primary HIV infection. *The Journal of Immunology*, 173(4), 2410-8.
- Drylewicz, J., Matheron, S., Lazaro, E., Damond, F., Bonnet, F., Simon, F., ... Thiebaut, R. (2008). Comparison of viro-immunological marker changes between HIV-1 and HIV-2-infected patients in France. *AIDS (London, England)*, 22(4), 457–468.
- Dunham, R. M., Cervasi, B., Brenchley, J. M., Albrecht, H., Weintrob, A., Sumpter, B., ... Silvestri, G. (2008). CD127 and CD25 Expression Defines CD4⁺ T Cell Subsets That Are Differentially Depleted during HIV Infection. *The Journal of Immunology*, 180(8), 5582–5592.

- Dunkle, K. L., Stephenson, R., Karita, E., Chomba, E., Kayitenkore, K., Vwalika, C., ... Allen, S. (2008). New heterosexually transmitted HIV infections in married or cohabiting couples in urban Zambia and Rwanda: an analysis of survey and clinical data. *The Lancet*, 371(9631), 2183-91.
- Edghill-Smith, Y., Venzon, D., Karpova, T., McNally, J., Nacsa, J., Tsai, W. P., ... Francinni, G. (2003). Modeling a safer smallpox vaccination regimen, for human immunodeficiency virus type 1-infected patients, in immunocompromised macaques. *The Journal of Infectious Diseases*, 188(8), 1181-91.
- Eholié, S. P., Badje, A., Kouame, G. M., N'takpe, J.-B., Moh, R., Danel, C., & Anglaret, X. (2016). Antiretroviral treatment regardless of CD4 count: the universal answer to a contextual question. *AIDS Research and Therapy*, 13, 27. <http://doi.org/10.1186/s12981-016-0111-1>
- Ekouevi, D. K., Balestre, E., Coffie, P. A., Minta, D., Messou, E., Sawadogo, A., ... Abidjan. (2013). Characteristics of HIV-2 and HIV-1/HIV-2 Dually Seropositive Adults in West Africa Presenting for Care and Antiretroviral Therapy: The IeDEA-West Africa HIV-2 Cohort Study. *PLoS ONE*, 8(6), e66135. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0066135>
- Esbjörnsson, J., Månsson, F., Kvist, A., Isberg, P. E., Nowroozalizadeh, S., Biague, A. J., ... Medstrand, P. (2014). Effect of HIV-2 infection on HIV-1 disease progression and mortality. *AIDS*, 28(4), 614-5.
- Esbjörnsson, J., Månsson, F., Kvist, A., Isberg, P. E., Nowroozalizadeh, S., Biague, A. J., ... Medstrand, P. (2012). Inhibition of HIV-1 disease progression by contemporaneous HIV-2 infection. *The New England Journal of Medicine*, 367(3), 224-32.
- Ewings, F. M., Ford, D., Walker, A. S., Carpenter, J. et Copas, A. (2014). Optimal CD4 count for initiating HIV treatment: impact of CD4 observation frequency and grace periods, and performance of dynamic marginal structural models. *Epidemiology*, 25(2), 194-202.
- Fahey JL, Taylor JM, Detels R, Hofmann B, Melmed R, Nishanian P. et Giorgi, J. V. (1990). The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. *The New England Journal of Medicine*, 322(3), 166-72.
- Filippin, F. B. et Souza, L. C. (2005). Serum beta2-microglobulin values among healthy Brazilians using a DPC IMMULITE assay. *Clinics (Sao Paulo)*, 60(1), 47-50.

- Fine, J. P. et Gray, R. J. (1999). A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *Journal of the American Statistical Association*, 94(446), 496-509.
- Fine, P. E., Williams, T. N., Aaby, P., Källander, K., Moulton, L. H., Flanagan, K. L., ... Working Group on Non-specific Effects of Vaccines (2009). Epidemiological studies of the 'non-specific effects' of vaccines: I--data collection in observational studies. *Tropical Medicine and International Health*, 14(9), 969-76.
- French, M. A., King, M. S., Tschampa, J. M., da Silva, B. A. et Landay, A. L. (2009). Serum immune activation markers are persistently increased in patients with HIV infection after 6 years of antiretroviral therapy despite suppression of viral replication and reconstitution of CD4+ T cells. *The Journal of Infectious Diseases*, 200(8), 1212-5.
- Funderburg, N. T. (2016). Identification of Immune Activation Profiles That May Predict Morbidity During Antiretroviral Therapy Treated HIV Infection. *EBioMedicine*, 8, 16–17. <http://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.05.012>
- Gabillard, D., Lewden, C., Ndoye, I., Moh, R., Segéral, O., Tonwe-Gold, B. et Laurent, C. (2013). Mortality, AIDS-morbidity, and loss to follow-up by current CD4 cell count among HIV-1-infected adults receiving antiretroviral therapy in Africa and Asia: data from the ANRS 12222 collaboration. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 62(5), 555-61.
- Geng, E. H., Nash, D., Kambugu, A., Zhang, Y., Braitstein, P., Christopoulos, K. A., ... Martin, J. N. (2010). Retention in Care Among HIV-Infected Patients in Resource-Limited Settings: Emerging Insights and New Directions. *Current HIV/AIDS Reports*, 7(4), 234–244.
- Ghislain, M., Bastard, J.-P., Meyer, L., Capeau, J., Fellahi, S., Gérard, L., ... ANRS-COPANA Cohort Study Group. (2015). Late Antiretroviral Therapy (ART) Initiation Is Associated with Long-Term Persistence of Systemic Inflammation and Metabolic Abnormalities. *PLoS ONE*, 10(12), e0144317. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0144317>
- Giorgi, J. .V, Hultin, L. E., McKeating, J. A., Johnson, T. D., Owens, B., Jacobson, L. P., ... Detels, R. (1999). Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma

- virus burden or virus chemokine coreceptor usage. *The Journal of Infectious Diseases*, 179(4), 859-70.
- Giorgi, J. V., Lyles, R. H., Matud, J. L., Yamashita, T. E., Mellors, J. W., Hultin, L. E., ... Multicenter AIDS Cohort Study (2002). Predictive value of immunologic and virologic markers after long or short duration of HIV-1 infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 29(4), 346-55.
- Gordon, S. N., Cervasi, B., Odorizzi, P., Silverman, R., Abera, F., Ginsberg, G., ... Silvestri, G. (2010). Disruption of Intestinal CD4⁺ T Cell Homeostasis Is a Key Marker of Systemic CD4⁺ T Cell Activation in HIV-Infected Individuals. *The Journal of Immunology*, 185(9), 5169–5179.
- Gottlieb, G. S., Eholié, S.-P., Nkengasong, J. N., Jallow, S., Rowland-Jones, S., Whittle, H. C., & Sow, P. S. (2008). A Call for Randomized Controlled Trials of Antiretroviral Therapy for HIV-2 Infection in West Africa. *AIDS*, 22(16), 2069–2074.
- Greenberg, A. E. (2001). Possible protective effect of HIV-2 against incident HIV-1 infection: review of available epidemiological and in vitro data. *AIDS* 2001; 15(17), 2319–2321.
- Greenberg, R. N., Overton, E. T., Haas, D. W., Frank, I., Goldman, M., von Krempelhuber, A., ... Chaplin, P. (2013). Safety, Immunogenicity, and Surrogate Markers of Clinical Efficacy for Modified Vaccinia Ankara as a Smallpox Vaccine in HIV-Infected Subjects. *The Journal of Infectious Diseases*, 207(5), 749–758.
- Grey, H. M., Kubo, R. T., Colon, S. M., Poulik, M. D., Cresswell, P., Springer, T., ... Strominger, J. L. (1973). The small subunit of HLA antigens is β 2-microglobulin. *The Journal of Experimental Medicine*, 138(6), 1608–1612.
- Grinsztejn, B., Hosseinipour, M. C., Ribaud, H. J., Swindells, S., Eron, J., Chen, Y. Q., ... HPTN 052-ACTG Study Team. (2014). Effects of early versus delayed initiation of antiretroviral treatment on clinical outcomes of HIV-1 infection: results from the phase 3 HPTN 052 randomised controlled trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(4), 281–290.
- Grome, H. N., Barnett, L., Hagar, C. C., Harrison, D. G., Kalams, S. A. et Koethe, J. R. (2016). Association of T cell and macrophage activation with arterial vascular health in HIV. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 33(2), 181-186.

- Grover, G., Gupta, V. K. et Swain, P. K. (2016). Estimation of Sub-distribution Hazard ratio of HIV/AIDS Patients for interval censored data with loss to follow up as a competing risk. *The Journal of Communicable Diseases*, 48(3), 22-28.
- Guaraldi, G., Cossarizza, A., Franceschi, C., Roverato, A., Vaccher, E., Tambussi, G., ... D'arminio Monforte, A. (2014). Life expectancy in the immune recovery era: the evolving scenario of the HIV epidemic in northern Italy. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 65(2), 175-81.
- Guiguet, M., Porter, K., Phillips, A., Costagliola, D., & CASCADE Collaboration, A. (2008). Clinical Progression Rates by CD4 Cell Category Before and After the Initiation of Combination Antiretroviral Therapy (cART). *The Open AIDS Journal*, 2, 3–9. <http://doi.org/10.2174/1874613600802010003>
- Gustafson, P., Gomes, V. F., Vieira, C. S., Samb, B., Naucler, A., Aaby, P. et Lisse, I. (2007). Clinical predictors for death in HIV-positive and HIV negative tuberculosis patients in Guinea-Bissau. *Infection*, 35(2), 69–80.
- Hansmann, A., Schim van der Loeff, M. F., Kaye, S., Awasana, A. A., Sarge-Njie, R., O'Donovan, D., ... Whittle, H. C. (2005). Baseline plasma viral load and CD4 cell percentage predict survival in HIV-1- and HIV-2-infected women in a community-based cohort in The Gambia. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 38(3), 335-41.
- Hargrove, J. W., Humphrey, J. H. et ZVITAMBO Study Group (2010). Mortality among HIV-positive postpartum women with high CD4 cell counts in Zimbabwe. *AIDS*, 24(3), F11-4.
- Hattab, S., Guiguet, M., Carcelain, G., Fourati, S., Guihot, A., Autran, B., ... Katlama, C. (2015). Soluble biomarkers of immune activation and inflammation in HIV infection: impact of 2 years of effective first-line combination antiretroviral therapy. *HIV Medicine*, 16(9), 553–562.
- Heil, F., Hemmi, H., Hochrein, H., Ampenberger, F., Kirschning, C., Akira, S., ... Bauer, S. (2004). Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*, 303(5663), 1526-9.
- HIV-CAUSAL Collaboration, Cain, L. E., Logan, R., Robins, J. M., Sterne, J. A., Sabin C, ... Hernan M. A. (2011). When to initiate combined antiretroviral therapy to reduce

- mortality and AIDS-defining illness in HIV-infected persons in developed countries: an observational study. *Annals of Internal Medicine*, 154(8), 509-15.
- Hofmann, B., Wang, Y. X., Cumberland, W. G., Detels, R., Bozorgmehri, M. et Fahey, J. L. (1990). Serum beta 2-microglobulin level increases in HIV infection: relation to seroconversion, CD4 T-cell fall and prognosis. *AIDS*, 4(3), 207-14.
- Holmes, C. B., Wood, R., Badri, M., Zilber, S., Wang, B., Maartens, G., ... Losina, E. (2006). CD4 decline and incidence of opportunistic infections in Cape Town, South Africa: implications for prophylaxis and treatment. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 42(4), 464-9.
- Holmgren, B., da Silva, Z., Vastrup, P., Larsen, O., Andersson, S., Ravn, H., & Aaby, P. (2007). Mortality associated with HIV-1, HIV-2, and HTLV-I single and dual infections in a middle-aged and older population in Guinea-Bissau. *Retrovirology*, 4, 85. <http://doi.org/10.1186/1742-4690-4-85>
- Hosp, M., Lisse, I. M., Quigley, M., Mwinga, A. M., Godfrey-Faussett, P., Porter, J. D., ... Fuchs, D. (2000). An evaluation of low-cost progression markers in HIV-1 seropositive Zambians. *HIV Medicine*, 1(2), 125-7.
- Hoy, J. F., Grund, B., Roediger, M., Schwartz. A. V., Shepherd, J., Avihingsanon, A., ... INSIGHT START Bone Mineral Density Substudy Group (2017). Immediate initiation of antiretroviral therapy for HIV infection accelerates bone loss relative to deferring therapy: findings from the START Bone Mineral Density Substudy, a randomized trial. *Journal of Bone and Mineral Research*, 32(9), 1945-1955.
- Hsieh, F. Y. et Lavori, P. W. (2000). Sample-size calculations for the Cox proportional hazards regression model with nonbinary covariates. *Controlled Clinical Trials*, 21(6), 552-60.
- Hsieh, F. Y., Bloch, D. A. et Larsen, M. D. (1998). A simple method of sample size calculation for linear and logistic regression. *Statistics in Medicine*, 17(14), 1623-34.
- Hsu, D. C. et Sereti, I. (2014). Chronic Immune Activation in HIV. Dans T. J. Hope, D. Richman, M. Stevenson (dir), *Encyclopedia of AIDS* (p. 1-10). New York, USA: Springer.
- Hsu, D. C. et Sereti, I. (2016). Serious Non-AIDS Events: Therapeutic Targets of Immune Activation and Chronic Inflammation in HIV Infection. *Drugs*, 76(5): 533–549.

- Hunt, P. W. (2012). HIV and Inflammation: Mechanisms and Consequences. *Current HIV/AIDS Reports*, 9(2), 139–147
- Hunt, P. W. (2016). Soluble CD163 and clinical outcomes in treated HIV infection: insights into mechanisms. *The Journal of Infectious Diseases*, 214 (8), 1132-1133.
- Hunt, P. W., Brenchley, J., Sinclair, E., McCune, J. M., Roland, M., Page-Shafer, K., ... Deeks, S. G. (2008). Relationship between T Cell Activation and CD4+ T Cell Count in HIV-Seropositive Individuals with Undetectable Plasma HIV RNA Levels in the Absence of Therapy. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(1), 126–133.
- Hunt, P. W., Martin, J. N., Sinclair, E., Epling, L., Teague, J., Jacobson, M. A., ... Deeks, S. G. (2011). Valganciclovir Reduces T Cell Activation in HIV-infected Individuals With Incomplete CD4+ T Cell Recovery on Antiretroviral Therapy. *The Journal of Infectious Diseases*, 203(10), 1474–148.
- INSIGHT START Study Group. (2015). Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *The New England Journal of Medicine*, 373(9), 795–807.
- Ivers, L. C., Kendrick, D. et Doucette, K. (2005). Efficacy of antiretroviral therapy programs in resource-poor settings: a meta-analysis of the published literature. *Clinical Infectious Diseases*, 41(2), 217-24.
- Jaffar, S., Grant, A. D., Whitworth, J., Smith, P. G. et Whittle, H. (2004). The natural history of HIV-1 and HIV-2 infections in adults in Africa: a literature review. *Bulletin of the World Health Organization*, 82(6), 462-9.
- Jennes, W., Evertse, D., Borget, M.-Y., Vuylsteke, B., Maurice, C., Nkengasong, J. N., & Kestens, L. (2006). Suppressed cellular alloimmune responses in HIV-exposed seronegative female sex workers. *Clinical and Experimental Immunology*, 143(3), 435–444.
- Jennes, W., Sawadogo, S., Koblavi-Dème, S., Vuylsteke, B., Maurice, C., Roels, T. H., ... Kestens, L. (2003). Cellular human immunodeficiency virus (HIV)-protective factors: a comparison of HIV-exposed seronegative female sex workers and female blood donors in Abidjan, Côte d'Ivoire. *The Journal of Infectious Diseases*, 187(2), 206-14.
- Jensen, M. L., Dave, S., van der Loeff, M. S., da Costa, C., Vincent, T., Leligidowicz, A., ... Aaby, P. (2006). Vaccinia Scars Associated with Improved Survival among Adults in

- Rural Guinea-Bissau. PLoS ONE, 1(1), e101.
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0000101>.
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Ending AIDS, Progress towards the 90–90–90 targets. UNAIDS, Geneva 2017.
- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). UNAIDS Data 2017. UNAIDS, Geneva 2017.
- Justice, A. C., Freiberg, M. S., Tracy, R., Kuller, L., Tate, J. P., Goetz, M. B., ... the VACS Project Team. (2012). Does an Index Composed of Clinical Data Reflect Effects of Inflammation, Coagulation, and Monocyte Activation on Mortality Among Those Aging With HIV? *Clinical Infectious Diseases*, 54(7), 984–994.
- Kalayjian, R. C., Machekano, R. N., Rizk, N., Robbins, G. K., Gandhi, R. T., Rodriguez, B. A., ... Landay, A. (2010). Pre-treatment Levels of Soluble Cellular Receptors and Interleukin-6 are Associated with HIV Disease Progression in HAART-Treated Subjects. *The Journal of Infectious Diseases*, 201(12), 1796–1805.
- Kamat, A., Misra, V., Cassol, E., Ancuta, P., Yan, Z., Li, C., ... Gabuzda, D. (2012). A Plasma Biomarker Signature of Immune Activation in HIV Patients on Antiretroviral Therapy. *PLoS ONE*, 7(2), e30881. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0030881>
- Kan, V. L., Manischewitz, J., King, L. R. et Golding, H. (2007). Durable neutralizing antibodies after remote smallpox vaccination among adults with and without HIV infection . *AIDS*, 21(4), 521-4.
- Kanki, P. J., Travers, K. U., Mboup, S., Hsieh, C. C., Marlink, R. G., Gueye, N. A., ... Sankalé J. L. (1994). Slower heterosexual spread of HIV-2 than HIV-1. *The Lancet*, 343(8903), 943–946.
- Kassim, S., Sassan-Morokro, M., Ackah, A., Abouya, L. Y., Digbeu, H., Yesso, G., ... Doorly, R. (1995). Two-year follow-up of persons with HIV-1- and HIV-2-associated pulmonary tuberculosis treated with shortcourse chemotherapy in West Africa. *AIDS*, 9(10), 1185–1191.
- Kebba, A., Kaleebu, P., Serwanga, J., Rowland, S., Yirrell, D., Downing, R., ... Whitworth J.(2004). HIV type 1 antigen-responsive CD4+ T-lymphocytes in exposed yet HIV Type 1 seronegative Ugandans. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 20(1), 67-75.

- Kefford, R. F., Calabi, F., Fearnley, I. M., Burrone, O. R. et Milstein, C. (1984). Serum beta 2-microglobulin binds to a T-cell differentiation antigen and increases its expression. *Nature*, 308(5960), 641-2.
- Kennedy, J. S., Frey, S. E., Yan, L., Rothman, A. L., Cruz, J., Newman, F. K., ... Ennis, F. A. (2004). Induction of Human T cell-mediated immune responses after primary and secondary smallpox vaccination. *The Journal of Infectious Diseases*, 190(7), 1286-1294.
- Kennedy, R. B., Poland, G. A., Ovsyannikova, I. G., Oberg, A. L., Asmann, Y. W., Grill, D. E., ... Jacobson, R. M. (2016). Impaired innate, humoral, and cellular immunity despite a take in smallpox vaccine recipients. *Vaccine*, 34(28), 3283–3290.
- Kerlikowske, K. M., Katz, M. H., Allen, S., Wolf, W., Hudes, E. S., Karita, E., ... Van de Perre, P. (1994). Beta 2-microglobulin as a predictor of death in HIV-infected women from Kigali, Rwanda. *AIDS*, 8(7), 963-9.
- Kiepiela, P., Smith, A. N. et Rosenberg, E.. Laboratory markers associated with progression of HIV infection. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 19(2), 243-54.
- Kin, K., Kasahara, T., Itoh, Y., Sakurabayashi, I., Kawai, T. et Morita, M. (1979). β_2 -microglobulin production by highly purified human T and B lymphocytes in cell culture stimulated with various mitogens. *Immunology*, 36(1), 47-54.
- Kim H. T. (2007). Cumulative incidence in competing risks data and competing risks regression analysis. *Clinical Cancer Research*, 13(2 Pt 1), 559-65.
- Klatt, N. R., Estes, J. D., Sun, X., Ortiz, A. M., Barber, J. S., Harris, L. D., ... Brenchley, J. M. (2012). Loss of CD103⁺ DCs and Mucosal IL-17⁺ and IL-22⁺ Lymphocytes is Associated with Mucosal Damage in SIV Infection. *Mucosal Immunology*, 5(6), 646–657.
- Klatt, N. R., Funderburg, N. T. et Brenchley, J. M. (2013). Microbial translocation, immune activation, and HIV disease. *Trends in Microbiology*, 21(1), 6-13.
- Koech, E., Teasdale, C. A., Wang, C., Fayorsey, R., Alwar, T., Mukui, I. N., ... Abrams, E. J. (2014). Characteristics and outcomes of HIV-infected youth and young adolescents enrolled in HIV care in Kenya. *AIDS*, 28(18), 2729–2738.

- Koning, F. A., Otto, S. A., Hazenberg, M. D., Dekker, L., Prins, M., Miedema, F. et Schuitemaker H. Low-level CD4⁺ T cell activation is associated with low susceptibility to HIV-1 infection. *The Journal of Immunology*, 175(9), 6117-22.
- Kotler, D. P., Gaetz, H. P., Lange, M., Klein, E. B., Holt et P. R. (1984). Enteropathy associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *Annals of Internal Medicine*, 101(4), 421–428.
- Kuller, L. H., Tracy, R., Bellosso, W., Wit, S. D., Drummond, F., Lane, H. C., ... INSIGHT SMART Study Group (2008). Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Medicine*, 5(10), e203. <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050203>
- Kumar, P. (2013). Long term non-progressor (LTNP) HIV infection. *Indian Journal of Medical Research*, 138(3), 291-3.
- Lambert-Niclot, S., Tubiana, R., Beaudoux, C., Lefebvre, G., Caby, F., Bonmarchand, M., ... Marcelin, A. G. (2012). Detection of HIV-1 RNA in seminal plasma samples from treated patients with undetectable HIV-1 RNA in blood plasma on a 2002-2011 survey. *AIDS*, 26(8), 971-5.
- Lambin, P., Desjobert, H., Debbia, M., Fine, J. M. et Muller, J. Y. (1986). Serum neopterin and beta 2-microglobulin in anti-HIV positive blood donors. *The Lancet*, 2(8517):1216.
- Lamotte, O., Boufassa, F., Madec, Y., Nguyen, A., Goujard, C., Meyer, L., ... SEROCO-HEMOCO Study Group(2005). HIV controllers: a homogeneous group of HIV-1-infected patients with spontaneous control of viral replication. *Clinical Infectious Diseases*, 41(7), 1053-6.
- Lasry, A., Sansom, S. L., Wolitski, R. J., Green, T. A., Borkowf, C. B., Patel, P. et Mermin, J. (2014). HIV sexual transmission risk among serodiscordant couples: assessing the effects of combining prevention strategies. *AIDS*, 28(10), 1521-9.
- Lawn, S. D., Harries, A. D., Anglaret, X., Myer, L. et Wood, R. (2008). Early mortality among adults accessing antiretroviral treatment programmes in sub-Saharan Africa. *AIDS*, 22(15), 1897-908.

- Leligdowicz, A., Feldmann, J., Jaye, A., Cotton, M., Dong, T., McMichael, A., ... Rowland-Jones, S. (2010). Direct relationship between virus load and systemic immune activation in HIV-2 infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 201(1), 114-22.
- Leridon H (2015). Afrique subsaharienne : une transition démographique explosive. *Futuribles* n°407, p.5-21.
- Lewden, C., Gabillard, D., Minga, A., Ekouévi, D. K., Avit, D., Konaté, I., ... Anglaret, X. (2012). CD4-specific mortality rates among HIV-infected adults with high CD4 counts and no antiretroviral treatment in West Africa. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 59(2), 213–219.
- Lima, V. D., Eyawo, O., Ma, H., Lourenço, L., Chau, W., Hogg, R. S., & Montaner, J. S. (2015). The impact of scaling-up combination antiretroviral therapy on patterns of mortality among HIV-positive persons in British Columbia, Canada. *Journal of the International AIDS Society*, 18(1), 20261. <http://doi.org/10.7448/IAS.18.1.20261>
- Liu Z, Cumberland, W. G., Hultin, L. E., Prince, H. E., Detels, R. et Giorgi, J. V. (1997). Elevated CD38 antigen expression on CD8+ T cells is a stronger marker for the risk of chronic HIV disease progression to AIDS and death in the Multicenter AIDS Cohort Study than CD4+ cell count, soluble immune activation markers, or combinations of HLA-DR and CD38 expression. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, 16(2), 83-92.
- The HIV-CAUSAL Collaboration. (2015). Comparative effectiveness of immediate antiretroviral therapy versus CD4-based initiation in HIV-positive individuals in high-income countries: observational cohort study. *The Lancet. HIV*, 2(8), e335–e343. [http://doi.org/10.1016/S2352-3018\(15\)00108-3](http://doi.org/10.1016/S2352-3018(15)00108-3)
- Lopez-Cortes, L. F., Gutierrez-Valencia, A. et Ben-Marzouk-Hidalgo O. J. (2016). Early initiation of antiretroviral therapy: debate over? *The Lancet Infectious Diseases*, 16(7), 769.
- Lynch, J. R., Cunningham, M. R., Warne, W. J., Schaad, D. C., Wolf, F. M. et Leopold, S. S. (2007). Commercially funded and United States-based research is more likely to be published; good-quality studies with negative outcomes are not. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 89(5), 1010-8.

- MacNeil, A., Sarr, A. D., Sankalé, J.-L., Meloni, S. T., Mboup, S., & Kanki, P. (2007). Direct Evidence of Lower Viral Replication Rates In Vivo in Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) Infection than in HIV-1 Infection. *Journal of Virology*, 81(10), 5325–5330.
- MacQueen, K. M. (2017). Young people, HIV, and life goals. *Journal of the International AIDS Society*, 20(1), 22267. <http://doi.org/10.7448/IAS.20.1.22267>
- Mahalingam, M., Peakman, M., Davies, E. T., Pozniak, A., McManus, T. J., & Vergani, D. (1993). T cell activation and disease severity in HIV infection. *Clinical and Experimental Immunology*, 93(3), 337–343.
- Malherbe, G., Steel, H. C., Cassol, S., de Oliveira, T., Seebregts, C. J., Anderson, R., ... Rossouw, T. M. (2014). Circulating biomarkers of immune activation distinguish viral suppression from nonsuppression in HAART-treated patients with advanced HIV-1 subtype C infection. *Mediators of Inflammation*, 2014, 198413. <http://doi.org/10.1155/2014/198413>
- Mann, J., Pasternak, A. O., Chahroudi, A., Singh, J. A., & Ross, A. L. (2016). The latest science from the IAS Towards an HIV Cure Symposium: 16–17 July 2016, Durban, South Africa. *Journal of Virus Eradication*, 2(4), 235–241.
- Mansson, F., Biague, A., da Silva, Z. J., Dias, F., Nilsson, L. A., Andersson, S., ... Norrgren, H. (2009). Prevalence and incidence of HIV-1 and HIV-2 before, during and after a civil war in an occupational cohort in Guinea-Bissau, West Africa. *AIDS*, 23(12), 1575-82.
- Marchetti, G., Tincati, C. et Silvestri, G. (2013). Microbial Translocation in the pathogenesis of HIV Infection and AIDS. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), 2-18.
- Marlink, R., Kanki, P., Thior, I., Travers, K., Eisen, G., Siby, T. ... Guéye, E. H. (1994). Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science*, 265(5178), 1587–1590.
- Masiira, B., Baisley, K., Mayanja, B. N., Kazooba, P., Maher, D. et Kaleebu, P. (2014). Mortality and its predictors among antiretroviral therapy naïve HIV-infected individuals with CD4 cell count ≥ 350 cells/mm³ compared to the general population: data from a population-based prospective HIV cohort in Uganda. *Global Health Action*, 15;7:21843. doi: 10.3402/gha.v7.21843

- Matoković, D., Hašpl, M., Petrić, P., Skorvaga, S. et Rajić, M. T. (2011). Value of β 2-microglobulin in the serum of healthy subjects older than 40 years. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 15(3), 315-8.
- Mátrai, Z., Németh, J., Miklós, K., Szabó, Z. et Masszi, T. (2009). Serum beta2-microglobulin measured by immunonephelometry: expression patterns and reference intervals in healthy adults. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 47(5), 585-9.
- McComsey, G. A., Kitch, D., Sax, P. E., Tierney, C., Jahed, N. C., Melbourne, K., ... Daar, E. S. (2014). Associations of Inflammatory Markers with AIDS and non-AIDS Clinical Events after Initiation of Antiretroviral Therapy: AIDS Clinical Trials Group A5224s, a substudy of ACTG A5202. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 65(2), 167–174.
- McGrath, N., Glynn, J. R., Saul, J., Kranzer, K., Jahn, A., Mwaungulu, F., ... Crampin, A. C. (2010). What happens to ART-eligible patients who do not start ART? Dropout between screening and ART initiation: a cohort study in Karonga, Malawi. *BMC Public Health*, 10, 601. <http://doi.org/10.1186/1471-2458-10-601>
- McLaren, P. J., Ball, T. B., Wachih, C., Jaoko, W., Kelvin, D. J., Danesh, A., ... Fowke, K. R. (2010). HIV-exposed seronegative commercial sex workers show a quiescent phenotype in the CD4+ T cell compartment and reduced expression of HIV-dependent host factors. *The Journal of Infectious Diseases*, 202 (Suppl 3), S339-44.
- Mecha, J. O., Kubo, E. N., Nganga, L. W., Muiruri, P. N., Njagi, L. N., Mutisya, I. N., ... Ngumi, Z. W. (2016). Trends in clinical characteristics and outcomes of Pre-ART care at a large HIV clinic in Nairobi, Kenya: a retrospective cohort study. *AIDS Research and Therapy*, 13, 38. <http://doi.org/10.1186/s12981-016-0122-y>
- Michel, P., Balde, A. T., Roussilhon, C., Aribot, G., Sarthou, J. L. et Gougeon, M. L. (2000). Reduced immune activation and T cell apoptosis in human immunodeficiency virus type 2 compared with type 1: correlation of T cell apoptosis with beta2 microglobulin concentration and disease evolution. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(1), 64-75.
- Miedema, F., Hazenberg, M. D., Tessaar, K., van Baarle, D., de Boer, R. J., & Borghans, J. A. M. (2013). Immune Activation and Collateral Damage in AIDS Pathogenesis. *Frontiers in Immunology*, 4, 298. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00298>

- Mildvan, D., Spritzler, J., Grossberg, S. E., Fahey, J. L., Johnston, D. M., Schock, B. R. et Kagan, J. (2005). Serum neopterin, an immune activation marker, independently predicts disease progression in advanced HIV-1 infection. *Clinical Infectious Diseases*, 40(6), 853-8.
- Mocroft, A., Katlama, C., Johnson, A. M., Pradier, C., Antunes, F., Mulcahy, F., ... Lundgren, J. D. (2000). AIDS across Europe, 1994-98: the EuroSIDA study. *The Lancet*, 356(9226), 291-6.
- Mocroft, A., Ledergerber, B., Katlama, C., Kirk, O., Reiss, P., d'ArminioMonforte, A., ... EuroSIDA study group (2003). Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *The Lancet*, 362(9377), 22-9.
- Mugisha, V., Teasdale, C. A., Wang, C., Lahuerta, M., Nuwagaba-Biribonwoha, H., Tayebwa, E., ... for the Identifying Optimal Models for HIV Care in Rwanda Collaboration. (2014). Determinants of mortality and loss to follow-up among adults enrolled in HIV care services in Rwanda. *PLoS ONE*, 9(1), e85774. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0085774>
- Münch, J., Rajan, D., Schindler, M., Specht, A., Rücker, E., Novembre, F. J., ... Kirchhoff, F. (2007). Nef-mediated enhancement of virion infectivity and stimulation of viral replication are fundamental properties of primate lentiviruses. *Journal of Virology*, 81(24), 13852–13864.
- Muraille, E. (2015). The unspecific side of acquired immunity against infectious disease: causes and consequences. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1525. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01525>
- Netea, M. G., Quintin, J. et van der Meer, J. W. (2011). Trained immunity: a memory for innate host defense. *Cell Host & Microbe*, 9(5), 355-61.
- Neuhaus, J., Jacobs, D. R., Baker, J. V., Calmy, A., Duprez, D., La Rosa, A., ... Neaton, J. D. (2010). Markers of Inflammation, Coagulation and Renal Function Are Elevated in Adults with HIV Infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 201(12), 1788–1795.
- Nixon, D. E., Bosch, R. J., S.Chan, E., Funderburg, N. T., Hodder, S., Lake, J. E., ... the AIDS Clinical Trials Group Study A5275 Team. (2017). Effects of atorvastatin on biomarkers of immune activation, inflammation, and lipids in virologically suppressed,

- HIV-1 infected individuals with LDL cholesterol <130mg/dl (AIDS Clinical Trials Group Study A5275). *Journal of Clinical Lipidology*, 11(1), 61–69.
- Nixon, D. E. et Landay, A. L. (2010). Biomarkers of immune dysfunction in HIV. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 5(6), 498–503.
- Norrgrén, H., Andersson, S., Biague, A. J., da Silva, Z. J., Dias, F., Naucier, A. et Biberfeld, G. (1999). Trends and interaction of HIV-1 and HIV-2 in Guinea-Bissau, west Africa: no protection of HIV-2 against HIV-1 infection. *AIDS*, 13(6), 701–707.
- Norrgrén, H., Bamba, S., da Silva, Z. J., Koivula, T. et Andersson, S. (2010). Higher mortality in HIV-2/HTLV-1 co-infected patients with pulmonary tuberculosis in Guinea-Bissau, West Africa, compared to HIV-2-positive HTLV-1-negative patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 14 (Suppl 3), e142–e147.
- Nsanzimana, S., Remera, E., Kanters, S., Forrest, J. I., Ford, N., Condo, J., ... Mills, E. J. (2015). Effect of baseline CD4 cell count at linkage to HIV care and at initiation of antiretroviral therapy on mortality in HIV-positive adult patients in Rwanda: a nationwide cohort study. *The Lancet HIV*, 2(9), e376-84.
- Nyamweya, S., Townend, J., Zaman, A., Steele, S. J., Jeffries, D., Rowland-Jones, S., ... Jaye, A. (2012). Are Plasma Biomarkers of Immune Activation Predictive of HIV Progression: A Longitudinal Comparison and Analyses in HIV-1 and HIV-2 Infections? *PLoS ONE*, 7(9), e44411. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0044411>
- O'Brien, M. P., Hunt, P. W., Kitch, D. W., Klingman, K., Stein, J. H., Funderburg, N. T., ... Aberg, J. A. (2017). A Randomized Placebo Controlled Trial of Aspirin Effects on Immune Activation in Chronically Human Immunodeficiency Virus-Infected Adults on Virologically Suppressive Antiretroviral Therapy. *Open Forum Infectious Diseases*, 4(1), ofw278. <http://doi.org/10.1093/ofid/ofw278>
- Organisation Mondiale de la Santé (2010). Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010. OMS, Décembre 2010.
- Organisation Mondiale de la Santé, Bureau régional de l'Afrique (2015). Prévention, diagnostic, traitement et soins de l'infection à VIH pour les populations clés. Bureau régional de l'OMS pour l'Afrique. OMS, Genève, 2015.
- Paiardini, M. et Muller-Trutwin, M. (2013). HIV-associated chronic immune activation. *Immunological Reviews*, 254(1), 78–101.

- Palmer, C. D., Tomassilli, J., Sirignano, M., Tejada, M. R., Arnold, K. B., Che, D., ... Altfeld, M. (2014). Enhanced immune activation linked to endotoxemia in HIV-1 seronegative men who have sex with men. *AIDS*, 28(14), 2162–2166.
- Petrovas, C., Casazza, J. P., Brechley, J. M., Price, D. A., Gostick, E., Adams, W. C., ... Koup, R. A. (2006). PD-1 is a regulator of virus-specific CD8⁺ T cell survival in HIV infection. *The Journal of Experimental Medicine*, 203(10), 2281–2292.
- Phillips, A., Pezzotti, P. for the CASCADE Collaboration (2004) Short-term risk of AIDS according to current CD4 cell count and viral load in antiretroviral drug-naïve individuals and those treated in the monotherapy era. *AIDS*, 18(1), 51-8.
- Phillips, A. N., Gazzard, B., Gilson, R., Easterbrook, P., Johnson, M., Walsh, J., ... UK Collaborative HIV Cohort Study (2007). Rate of AIDS diseases or death in HIV-infected antiretroviral therapy-naïve individuals with high CD4 cell count. *AIDS*, 21(13), 1717-21.
- Phillips, A. N., Neaton, J. et Lundgren, J. D. (1992). The role of HIV in serious diseases other than AIDS. *AIDS*, 22(18), 2409-18.
- Pizzolo, G., Vinante, F., Morosato, L., De Sabata, D., Sinicco, A., Raiteri, R., ... Semenzato, G. (1992). Determinants of HIV disease progression. *The Lancet*, 339(8785), 130.
- Piwowar, E. M., Tugume, S. B., Grant, R. M., Lutalo, T., Pattishall, K., & Katongole-Mbidde, E. (1995). beta-2 Microglobulin values among human immunodeficiency virus (HIV)-negative, HIV-positive asymptomatic, and HIV-positive symptomatic Ugandans. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 2(2), 236–237.
- Poulsen, A. G., Aaby, P., Larsen, O., Jensen, H., Nauc  r, A., Lisse, I. M., ... Melbye, M. (1997). 9-year HIV-2-associated mortality in an urban community in Bissau, west Africa. *The Lancet*, 349(9056), 911-4.
- Prince, P. D., Matser, A., van Tienen, C., Whittle, H. C. et Schim van der Loeff, M. F. (2014). Mortality rates in people dually infected with HIV-1/2 and those infected with either HIV-1 or HIV-2: a systematic review and meta-analysis. *AIDS*, 28(4), 549-58.
- Prodger, J., Hirbod, T., Kigozi, G., Nalugoda, F., Reynolds, S., Galiwango, R., ... the Rakai Genital Immunology Research Group, R. (2014). Immune correlates of HIV exposure without infection in foreskins of men from Rakai, Uganda. *Mucosal Immunology*, 7(3), 634–644.

- Psomas, C., Younas, M., Reynes, C., Cezar, R., Portalès, P., Tuaillon, E., ... Corbeau, P. (2016). One of the immune activation profiles observed in HIV-1-infected adults with suppressed viremia is linked to metabolic syndrome: The ACTIVIH study. *EBioMedicine*, 8, 265–276.
- Redfield, R. R., Wright, D. C., James, W. D., Jones, T. S., Brown, C. et Burke, D. S. (1987). Disseminated vaccinia in a military recruit with human immunodeficiency virus (HIV) disease. *The New England Journal of Medicine*, 316(11), 673-6.
- Reidy, W. J., Sheriff, M., Wang, C., Hawken, M., Koech, E., Elul, B., ... Abrams, E. J. (2014). Decentralization of HIV Care and Treatment Services in Central Province, Kenya. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 67(1), e34–e40.
- République du Sénégal, Conseil National de Lutte contre le Sida. Rapport d'activités sur la riposte au Sida 2015. Sénégal, Dakar, 2016.
- Restrepo, C., Rallón, N. I., del Romero, J., Rodríguez, C., Hernando, V., López, M., ... Benito, J. M. (2010). Low-level exposure to HIV induces virus-specific T cell responses and immune activation in exposed HIV-seronegative individuals. *The Journal of Immunology*, 185(2), 982-9.
- Rodger, A. J., Cambiano, V., Bruun, T., Vernazza, P., Collins, S., van Lunzen, J., ... PARTNER Study Group (2016). Sexual activity without condoms and risk of HIV transmission in serodifferent couples when the HIV-positive partner is using suppressive antiretroviral therapy. *Journal of the American Medical Association*, 316(2), 171-81.
- Rodger, A. J. et Sabin, C. A. (2017). How have guidelines on when to start antiretroviral therapy affected survival of people living with HIV infection? *Current Opinion in HIV and AIDS*, 11(5), 487-491.
- Rose, R., Nolan, D. J., Maidji, E., Stoddart, C. A., Singer, E. J., Lamers, S. L. et McGrath, M. S. (2017). Eradication of HIV from tissue reservoirs: challenges for the cure. *AIDS Research and Human Retroviruses*, Aug 7. doi: 10.1089/AID.2017.0072
- Rossouw, T., Tucker, J. D., van Zyl, G. U., Sikwesi, K. et Godfrey, C. (2017). Barriers to HIV remission research in low- and middle-income countries. *Journal of the International AIDS Society*, 20(1), 1-9.

- Sabin, C. A. (2013). Do people with HIV infection have a normal life expectancy in the era of combination antiretroviral therapy? *BMC Medicine*, 11, 251. <http://doi.org/10.1186/1741-7015-11-251>
- Sabin, C. A. (2009). Early antiretroviral therapy: the role of cohorts. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 4(3), 200-5.
- Safrit, J. T., Fast, P. E., Gieber, L., Kuipers, H., Dean, H. J. et Koff, W. C. (2016). Status of vaccine research and development of vaccines for HIV-1. *Vaccine*, 34(26), 2921-5.
- Saleh, S., Vranckx, L., Gijssbers, R., Christ, F. et Debyser, Z. (2017). Insight into HIV-2 latency may disclose strategies for a cure for HIV-1 infection. *Journal of Virus Eradication*, 3(1), 7-14.
- Samji, H., Cescon, A., Hogg, R. S., Modur, S. P., Althoff, K. N., Buchacz, K., ... for The North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design (NA-ACCORD) of IeDEA. (2013). Closing the Gap: Increases in Life Expectancy among Treated HIV-Positive Individuals in the United States and Canada. *PLoS ONE*, 8(12), e81355. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0081355>
- Sandler, N. G., Wand, H., Roque, A., Law, M., Nason, M. C., Nixon, D. E., ... Douek, D. C. (2011). Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 203(6), 780–790.
- Schim van der Loeff, M. F., Aaby, P., Aryioshi, K., Vincent, T., Awasana, A. A., Da Costa, C., ... Whittle, H. C. (2001). HIV-2 does not protect against HIV-1 infection in a rural community in Guinea-Bissau. *AIDS*, 15(17), 2303–2310.
- Van der Loeff, M. F. S., Larke, N., Kaye, S., Berry, N., Ariyoshi, K., Alabi, A., ... Whittle, H. (2010). Undetectable plasma viral load predicts normal survival in HIV-2-infected people in a West African village. *Retrovirology*, 7, 46. <http://doi.org/10.1186/1742-4690-7-46>
- Schindler, M., Münch, J., Kutsch, O., Li, H., Santiago, M. L., Bibollet-Ruche, F., ... Kirchhoff, F. (2006). Nef-mediated suppression of T cell activation was lost in a lentiviral lineage that gave rise to HIV-1. *Cell*, 125(6), 1055-67.
- Schneider, T., Jahn, H. U., Schmidt, W., Riecken, E. O., Zeitz, M., & Ullrich, R. (1995). Loss of CD4 T lymphocytes in patients infected with human immunodeficiency virus type 1

- is more pronounced in the duodenal mucosa than in the peripheral blood. Berlin Diarrhea/Wasting Syndrome Study Group. *Gut*, 37(4), 524–529.
- Schöni-Affolter, F., Keiser, O., Mwango, A., Stringer, J., Ledergerber, B., Mulenga, L., ... for the Swiss HIV Cohort Study and IeDEA Southern Africa, B. H. (2011). Estimating Loss to Follow-Up in HIV-Infected Patients on Antiretroviral Therapy: The Effect of the Competing Risk of Death in Zambia and Switzerland. *PLoS ONE*, 6(12), e27919. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0027919>
- Schwartz, C., Bouchat, S., Marban, C., Gautier, V., Van Lint, C., Rohr, O. et Le Douce, V. (2017). On the way to find a cure: Purging latent HIV-1 reservoirs. *Biochemical Pharmacology*, pii: S0006-2952(17), 30478-1.
- Sereti, I., & Altfeld, M. (2016). Immune activation and HIV: An enduring relationship. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 11(2), 129–130.
- Siddiqi, A.-A., Irene Hall, H., Hu, X., & Song, R. (2016). Population-Based Estimates of Life Expectancy After HIV Diagnosis. United States 2008 – 2011. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 72(2), 230–236.
- Sidenius, N., Sier, C. F., Ullum, H., Pedersen, B. K., Lepri, A. C., Blasi, F. et Eugen-Olsen, J. (2000). Serum level of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor is a strong and independent predictor of survival in human immunodeficiency virus infection. *Blood*, 96(13), 4091-5.
- Smit, C., Gekus, R., Walker, S., Sabin, C., Coutinho, R., Porter, K., Prins, M. ... CASCADE Collaboration (2006). Effective therapy has altered the spectrum of cause-specific mortality following HIV seroconversion. *AIDS*, 20(5), 741-9.
- Smit-McBride, Z., Mattapallil, J. J., McChesney, M., Ferrick, D., & Dandekar, S. (1998). Gastrointestinal T Lymphocytes Retain High Potential for Cytokine Responses but Have Severe CD4+ T-Cell Depletion at All Stages of Simian Immunodeficiency Virus Infection Compared to Peripheral Lymphocytes. *Journal of Virology*, 72(8), 6646–6656.
- So-Armah, K. A., Tate, J. P., Chang, C.-C. H., Butt, A. A., Gerschenson, M., Gibert, C. L., ... Freiberg, M. S. (2016). Do Biomarkers of Inflammation, Monocyte Activation, and Altered Coagulation Explain Excess Mortality Between HIV Infected and Uninfected People? *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 72(2), 206–213.

- Songok, E. M., Luo, M., Liang, B., McLaren, P., Kaefer, N., Apidi, W., ... Plummer, F. A. (2012). Microarray analysis of HIV resistant female sex workers reveal a gene expression signature pattern reminiscent of a lowered immune activation state. *PLoS ONE*, 7(1), e30048. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0030048>
- Sousa, A. E., Carneiro, J., Meier-Schellersheim, M., Grossman, Z. et Victorino, R. M. M. (2002). CD4 T cell Depletion is linked directly to immune activation in the pathogenesis of HIV-1 and HIV-2 but only indirectly to the viral load. *The Journal of Immunology*, 169(6), 3400-3406.
- Srinivasula, S., Lempicki, R. A., Adelsberger, J. W., Huang, C.-Y., Roark, J., Lee, P. I., ... Kovacs, J. A. (2011). Differential effects of HIV viral load and CD4 count on proliferation of naive and memory CD4 and CD8 T lymphocytes. *Blood*, 118(2), 262–270.
- Stellbrink, H., Baldus, S., Behrens, G., Bogner, J., Harrer, T., Hoffmann, C., ... Rockstroh, J. (2010). HIV-induced immune activation - pathogenesis and clinical relevance. Summary of a workshop organised by the German AIDS Society (DAIG e.v.) and the ICH Hamburg, Hamburg, Germany, November 22, 2008. *European Journal of Medical Research*, 15(1), 1–12.
- Stiksrud, B., Lørvik, K. B., Kvale, D., Mollnes, T. E., Ueland, P. M., Trøseid, M., ... Dyrhol-Riise, A. M. (2016). Plasma IP-10 is increased in immunological nonresponders and associated with activated regulatory T cells and persisting low CD4 counts. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 73(2) 138–148.
- Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, Lundgren, J. D., Babiker, A., El-Sadr, W., Emery, S., Grund, B., ... Philips, A. N. (2008). Inferior clinical outcome of the CD4+ cell count-guided antiretroviral treatment interruption strategy in the SMART study: role of CD4+ Cell counts and HIV RNA levels during follow-up. *The Journal of Infectious Diseases*, 197(8), 1145-55.
- Study Group on Death Rates at High CD4 Count in Antiretroviral Naïve Patients. (2010). Death rates in HIV-positive antiretroviral-naïve patients with CD4 count greater than 350 cells per microL in Europe and North America: a pooled cohort observational study. *The Lancet*, 376(9738), 340–345.

- Suy, A., Castro, P., Nomdedeu, M., García, F., López, A., Fumero, E., ... Plana, M. (2007). Immunological profile of heterosexual highly HIV-exposed uninfected individuals: predominant role of CD4 and CD8 T-cell activation. *The Journal of Infectious Diseases*, 196(8), 1191-201.
- Svatoňová, J., Bořecká, K., Adam, P., & Lánská, V. (2014). Beta2-Microglobulin as a Diagnostic Marker in Cerebrospinal Fluid: A Follow-Up Study. *Disease Markers*, 2014, 495402. <http://doi.org/10.1155/2014/495402>
- Tasker, S. A., Schnepf, G. A., Lim, M., Caraviello, H. E., Armstrong, A., Bavaro, M., ... US Department of Defense Tri-Service AIDS Clinical Consortium (2004). Unintended smallpox vaccination of HIV-1-infected individuals in the United States military. *Clinical Infectious Diseases*, 38(9), 1320-2.
- Taub, D. D., Ershler, W. B., Janowski, M., Artz, A., Key, M. L., McKelvey, J., ... Longo, D. L. (2008). Immunity from Smallpox Vaccine Persists for Decades: A Longitudinal Study. *The American Journal of Medicine*, 121(12), 1058–1064.
- Tchounga, B., Ekouevi, D. K., Balestre, E. et Dabis, F. (2016). Mortality and survival patterns of people living with HIV-2. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 11(5), 537-544.
- TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, Danel, C., Moh, R., Gabillard, D., Badje, A., Le Carrou, J., ... Anglaret, X. (2015). A Trial of Early Antiretrovirals and Isoniazid Preventive Therapy in Africa. *The New England Journal of Medicine*, 373(9), 808-22.
- The Independent Advisory Group on Public Health Implications of Synthetic Biology Technology Related to Smallpox. A report to the Director-General of WHO. WHO, Geneva, Switzerland 29-30 June 2015.
- Thiébaud, R., Charpentier, C., Damond, F., Taieb, A., Antoine, R., Capeau, J., ... French ANRS HIV-2 CO5 Cohort (2012). Association of Soluble CD14 and Inflammatory Biomarkers with HIV-2 Disease Progression. *Clinical Infectious Diseases*, 55 (10), 1417-1425.
- Togun, T., Peterson, I., Jaffar, S., Oko, F., Okomo, U., Peterson, K., & Jaye, A. (2011). Pre-treatment mortality and loss-to-follow-up in HIV-1, HIV-2 and HIV-1/HIV-2 dually infected patients eligible for antiretroviral therapy in The Gambia, West Africa. *AIDS Research and Therapy*, 8, 24. <http://doi.org/10.1186/1742-6405-8-24>.

- Tran, H. K., Chartier, L., Troung, L. X., Nguyen, N. N., Fontanet, A., Barré-Sinoussi, F. E., ... Scott-Algara, D. (2006). Systemic immune activation in HIV-1-exposed uninfected Vietnamese intravascular drug users. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 22(3), 255-61.
- Trautmann, L., Janbazian, L., Chomont, N., Said, E. A., Gimmig, S., Bessette, B., ... Sekaly, R. P. (2006). Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8⁺ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nature Medicine*, 12(10), 1198-202.
- Ullum, H., Lepri, A. C., Katzenstein, T. L., Phillips, A. N., Skinhøj, P., Gerstoft, J., ... Pedersen, B. K. (2000). Prognostic value of single measurements of beta-2-microglobulin, immunoglobulin A in HIV disease after controlling for CD4 lymphocyte counts and plasma HIV RNA levels. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 32(4):371-6.
- Van der Paal, L., Shafer, L. A., Todd, J., Mayanja, B. N., Whitworth, J. A., et Grosskurth, H. (2007). HIV-1 disease progression and mortality before the introduction of highly active antiretroviral therapy in rural Uganda. *AIDS*, 21(Suppl 6), S21-9.
- Van Tienen, C., Schim van der Loeff, M., Peterson, I., Cotten, M., Andersson, S., Holmgren, B., ... Whittle, H. (2011). HTLV-1 and HIV-2 Infection Are Associated with Increased Mortality in a Rural West African Community. *PLoS ONE*, 6(12), e29026. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0029026>
- Van Tienen, C., Schim van der Loeff, M. et Whittle, H. (2012). Effect of HIV-2 infection on HIV-1 disease progression. *The New England Journal of Medicine*, 367(20), 1961; author reply 1962-3.
- Vannberg, F. O., McDermid, J. M., Jaye, A., MRC Gambia HIV Clinical Cohort Study, Wellcome Trust Case Control Consortium 3. Effect of HIV-2 infection on HIV-1 disease progression. *The New England Journal of Medicine*, 367(20), 1962; author reply 1962-3.
- Wada, N., Jacobson, L. P., Cohen, M., French, A., Phair, J. et Muñoz, A. (2014). Cause-specific mortality among HIV-infected individuals, by CD4(+) cell count at HAART initiation, compared with HIV-uninfected individuals. *AIDS*, 28(2), 257-65.
- Wada, N. I., Bream, J. H., Martínez-Maza, O., Macatangay, B., Galvin, S. R., Margolick, J. B., & Jacobson, L. P. (2016). Inflammatory biomarkers and mortality risk among HIV-

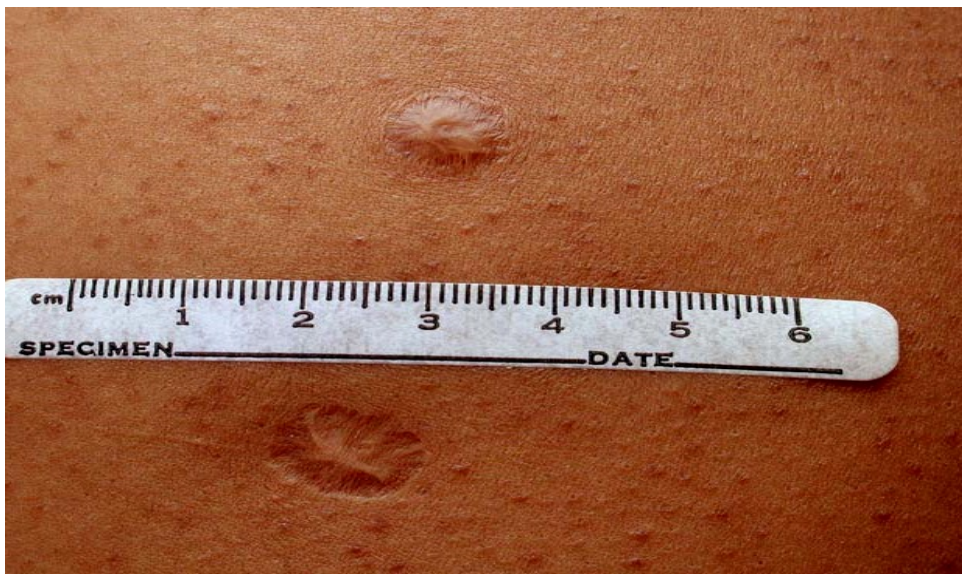
- suppressed men: a multisite prospective cohort study. *Clinical Infectious Diseases*, 63(7), 984–990.
- Weinstein, R. S., Weinstein, M. M., Alibek, K., Bukrinsky, M. I., & Brichacek, B. (2010). Significantly reduced CCR5-tropic HIV-1 replication in vitro in cells from subjects previously immunized with Vaccinia Virus. *BMC Immunology*, 11, 23. <http://doi.org/10.1186/1471-2172-11-23>
- Weinstein, R. S., Weinstein, M. M. et Alibek, K. (2004). Compositions and methods for treating or preventing hiv infection. US patent app. 2004.
- When To Start Consortium. (2009). Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies. *The Lancet*, 373(9672), 1352–1363.
- WHO Advisory Committee on Variola Virus Research (2016). Report of the Eighteenth Meeting. WHO, Geneva, Switzerland 2-3 November 2016.
- Wiktor, S. Z., Nkengasong, J. N., Ekpini, E. R., Adjorlolo-Johnson, G. T., Ghys, P. D., Brattegaard, K., ... Greenberg, A. E. (1999). Lack of protection against HIV-1 infection among women with HIV-2 infection. *AIDS*, 13(6), 695–699.
- Wittkop, L., Bitard, J., Lazaro, E., Neau, D., Bonnet, F., Mercie, P., ... Groupe d'Epidémiologie Clinique du SIDA en Aquitaine. (2013). Effect of cytomegalovirus-induced immune response, self antigen-induced immune response, and microbial translocation on chronic immune activation in successfully treated HIV type 1-infected patients: the ANRS CO3 Aquitaine Cohort. *The Journal of Infectious Diseases*, 207(4), 622-7.
- World Health Organization (2016). Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection, recommendations for a public health approach, Second edition. WHO 2016.
- World Health Organization (2013). Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection, Recommendations for a public health approach. WHO, June 2013.
- Writing Committee for the CASCADE Collaboration (2011). Timing of HAART initiation and clinical outcomes in human immunodeficiency virus type 1 seroconverters. *Archives of Internal Medicine*, 171(17), 1560-9.

8. Annexes

8.1. Annexe 1 : cicatrices de vaccination contre la variole



Cicatrice indélébile caractéristique faisant suite à la vaccination contre la variole



Cicatrice de vaccination au BCG (haut) et cicatrice de vaccination contre la variole (bas)

8.2. Annexe 2 : Description des cohortes WAPHIR

8.2.1. Objectifs

Éclairer la discussion sur un agenda de recherche épidémiologique avec WAPHIR par :

- Une meilleure compréhension des méthodes de collecte de données dans chaque cohorte et identifier les différences qui pourraient compliquer la fusion des données des différentes cohortes.
- Description de la population de chaque cohorte et identifier les variables clés qui pourraient être incluses dans une base de données commune.

8.2.2. Introduction

L'objectif principal de WAPHIR est d'établir un partenariat ouest africain (avec des partenaires européens et canadiens) pour améliorer la recherche fondamentale et conduire des essais de phase 1 et 2.

Toutefois, la disponibilité de données cliniques collectées en routine dans les cohortes de PVVIH des centres de recherche participants offre la perspective de mettre en place une base de données commune de cohortes cliniques de PVVIH en Afrique de l'ouest permettant ainsi de dérouler un vaste programme de recherche épidémiologique qui ne serait pas possible avec les cohortes de chaque centre. Les cohortes qui contribuent à WAPHIR sont les suivantes :

- Cohortes cliniques :
 - Cohorte clinique de Fajara
 - Cohorte des travailleuses de sexe (TS) de Dakar
 - Cohorte clinique de Fann à Dakar
 - Cohorte de Bissau
- Cohortes communautaires:
 - Caio (données de surveillance sérologiques répétées enrichies par des données d'études cliniques additionnelles)

Les principales caractéristiques de ces cohortes sont décrites dans ce document, avec comme but principal d'avoir une idée des effectifs. Les critères de sélection sont différents pour les différentes cohortes et ont été choisis en fonction des données disponibles au moment de la rédaction de ce document.

Par exemple, tous les patients des cohortes de Fajara et Caio avaient des mesures de CD4 dans un intervalle de 90 jours après leur entrée dans la cohorte (inclusion). Ce n'est pas le cas de la cohorte des TS de Dakar où un travail supplémentaire est en train d'être fait pour compléter les données de CD4 notamment. Les cohortes en gris doivent faire l'objet d'une exploration initiale par le groupe WAPHIR.

8.2.3. Cohorte de Fajara

8.2.3.1. Contexte

La cohorte Fajara est une cohorte clinique rattachée à la clinique du Medical Research Council (MRC) à Banjul en Gambie. Les tests sérologiques VIH de routine ont débuté en 1988 à la clinique du MRC. La mise en place d'une clinique de médecine génito-urinaire a suivi et a servi de centre national de référence pour le VIH en Gambie jusqu'en 2010.

Jusqu'à 1997, la sérologie VIH était proposée à tous les patients qui se présentaient à la clinique avec l'un des critères suivants :

- Présence de tuberculose ou d'infection sexuellement transmissible (IST) autre que VIH
- Être partenaire d'un patient infecté par le VIH ou présentant une IST
- Être travailleuse du sexe active
- Présence de symptômes et signes cliniques suggérant une infection à VIH
- Autres raisons documentées par le clinicien.

A partir de 1997, la sérologie VIH a été systématiquement proposée à tous les patients qui se sont présentés à la clinique. Pour tous les patients ayant eu une sérologie VIH positive, il a été proposé un suivi trimestriel. Pour ceux qui ne se présentaient pas à la clinique, des travailleurs sociaux effectuaient des visites à domicile pour les inciter à retourner à la clinique. Les données collectées durant les visites de routine étaient les suivantes :

Sérologie VIH :

Les tests sérologiques suivants ont été utilisés pour déterminer le statut VIH :

- Jusqu'à Août 1996, Wellcozyme HIV 1+2 (Murex Diagnostics Ltd). En cas de positivité, les échantillons étaient retestés par ELISA spécifique de type (Wellcozyme HIV-1 or HIV-2).

- Août 1996 à 2010 : ICEHIV-1.O.2 (Murex). Si positif, les échantillons étaient retestés en utilisant le ICE-HIV-2 test^{1,2}.
- Les échantillons qui étaient positifs pour les deux types de VIH étaient encore testés par Pepti-Lav 1-2 (Sanofi) avec un second test réalisé sur un échantillon prélevé 2 à 8 semaines après la positivité initiale².
- Les patients avec au moins un test positif mais des tests Pepti-Lav non concluants, et les patients avec des résultats incompatibles ont été classifiés comme ayant un statut VIH indéterminé^{1,2}.
- Des tests de PCR utilisant des cellules mononucléées de sang périphérique « peripheral blood mononuclear cells » (PBMC) ont été également utilisés pour confirmer les doubles infections¹.

Tests de laboratoire (CD4 et charge virale) :

- Le pourcentage de CD4 a été estimé sur site par FACScan (Becton-Dickinson, Oxford, UK) jusqu'à Août 1997 et par FACS Calibur (Becton-Dickinson) à partir de septembre 1997².
- Le nombre de CD4 a été calculé à partir du nombre de globules blancs et du pourcentage de lymphocytes.
- Les mesures sur les différentes lignées de lymphocytes ont été réalisées dès que possible après l'entrée dans la cohorte (premier test sérologique positif).
- Bien que la clinique eût pour objectif d'avoir un niveau de CD4 à l'inclusion, les mesures de CD4 suivantes durant le suivi étaient variables et étaient souvent faites à l'occasion d'une symptomatologie indiquant une immunodépression.
- Les mesures de charge virale n'étaient pas faites en routine à l'inclusion ou durant le suivi. Elles étaient souvent faites à l'occasion d'études spécifiques sur des sous-populations de la cohorte.

Collecte des données démographiques et cliniques :

- Les données démographiques de base incluant âge, sexe, statut matrimonial et adresse ont été recueillies à l'inclusion.
- Une évaluation clinique était faite à l'inclusion et lors des visites cliniques.
- Le stade clinique a été classé selon le système du Center for Diseases Control and Prevention (CDC) et à partir de janvier 1993, selon la classification de l'OMS.

Antirétroviraux:

Le traitement ARV est devenu disponible à partir de 2004. Les dates de début et de fin de chaque traitement ainsi que les raisons de l'arrêt du traitement sont renseignées dans la base de données de la cohorte principale.

Données de mortalité :

Les données de mortalité sont renseignées dans la base de données de la cohorte principale mais la cause de décès était inconnue pour la majorité des cas. La date de décès était renseignée à partir de dossiers hospitaliers (pour les patients décédés à la clinique) ou par l'interrogatoire des proches des PVVIH décédés hors clinique.

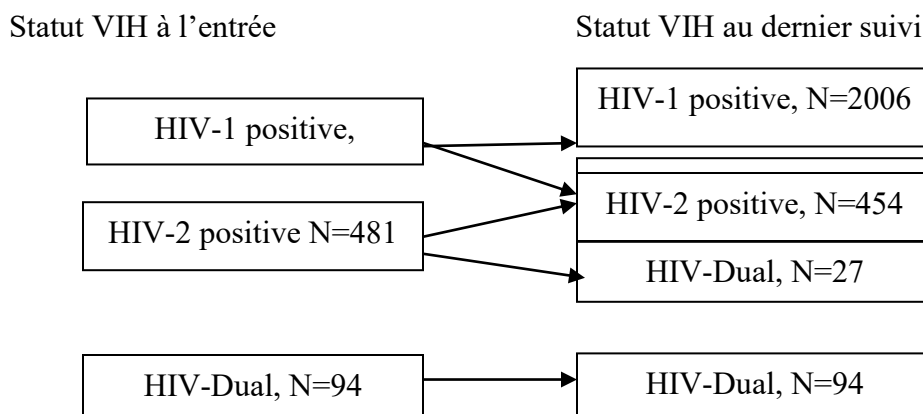
Pour la disponibilité des autres données, se référer au dictionnaire des données de la cohorte Fajara.

8.2.3.2. Statistiques clés

Diagnostic:

Entre Décembre 1992 et Mars 2010, 2600 individus ont été identifiés avec un diagnostic VIH confirmé (positif sur deux tests sérologiques différents) et avec une mesure de CD4 valide dans les 90 jours après la date du premier diagnostic. La distribution des sérotypes VIH durant le suivi est présentée dans la figure 3.1.

Figure 3.1: Statut VIH des patients au début et à la fin du suivi dans la cohorte*



*Prend en compte seulement les individus testés VIH positifs au moins une fois durant leur suivi.

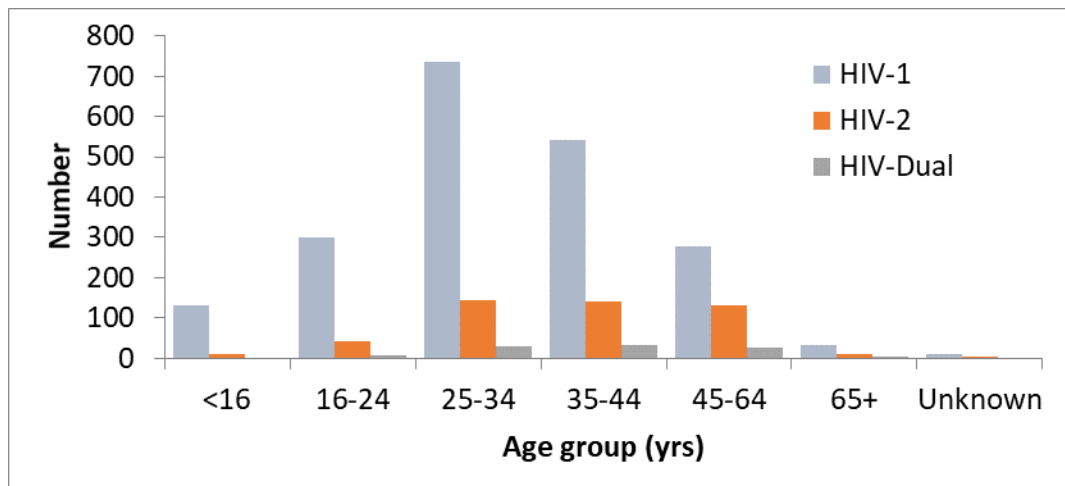
Caractéristiques démographiques:

Les distributions d'âge et de sexe des individus VIH positifs à l'inclusion sont présentées dans le tableau 3.1 et la figure 3.2

Table 3.1: Âge et sexe des PVHIV à l'inclusion selon le sérotype initial

Âge (ans) et sexe	HIV-1	HIV-2	HIV-Dual
<16 Homme	60	5	0
Femme	70	6	0
16-24 Homme	20	2	1
Femme	280	39	6
25-34 Homme	194	31	3
Femme	540	113	25
35-44 Homme	244	47	8
Femme	298	95	24
45-64 Homme	153	71	12
Femme	125	59	13
65+ Homme	17	3	1
Femme	15	8	1
Inconnu	9	2	0

Figure 3.2: Distribution d'âge à l'inclusion selon le sérotype initial



Raisons ayant motivé le test VIH :

Les raisons ayant motivé la sérologie VIH sont présentées sur le tableau 3.2. La raison la plus évoquée était la survenue de symptômes cliniques orientant vers le VIH, par exemple perte de poids, fièvre persistante, candidose orale, leucoplasie chevelue de la langue etc.

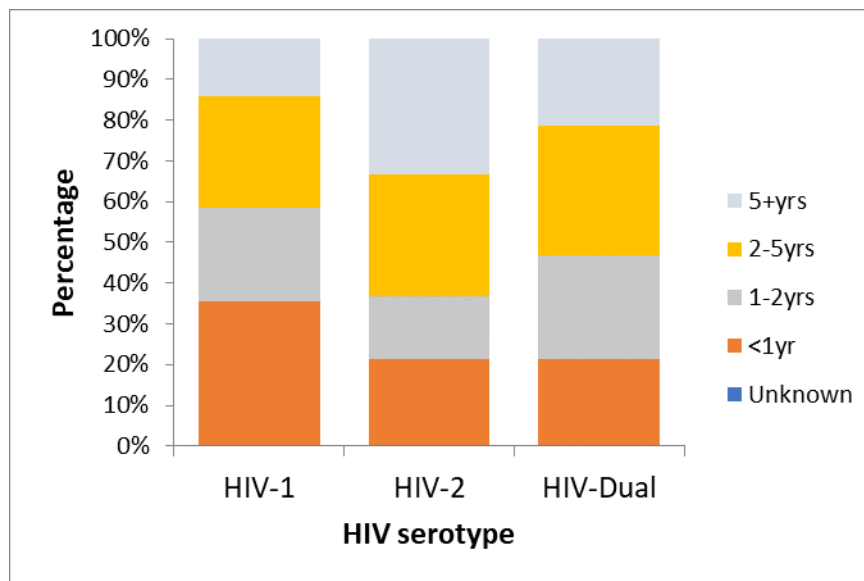
Table 3.2 Raisons ayant motivé le test VIH selon le sérotype initial.

Raisons de la sérologie	HIV-1 (%)	HIV-2 (%)	HIV-D (%)	Overall (%)
Symptômes d'IST	16.3	20.6	16.0	17.0
Symptômes de TB	6.8	5.8	4.3	6.5
Autres symptômes (non TB) orientant vers le VIH	42.7	38.9	43.6	42.0
Contact avec un patient VIH/TB	9.8	5.6	7.5	9.0
Confirmation du test VIH réalisé dans un autre centre	6.8	9.2	9.6	7.3
TS	2.2	4.4	5.3	2.7
Autres	12.5	14.6	12.8	12.9
Inconnu	3.1	1.0	1.1	2.6

Suivi des patients :

La durée moyenne de suivi des patients (du diagnostic à la dernière visite clinique ou au décès) était de 1023.0 jours. La durée de suivi variait de 9 à 6112 jours avec une médiane de 1627.5 jours. La durée de suivi moyenne variait selon le sérotype VIH : 891.1 jours pour le HIV-1, 1550.6 jours pour HIV-2 and 1168.3 pour coinfection (HIV-1 + HIV-2). Une proportion plus élevée des patients HIV-2 avait une durée de suivi de plus de deux ans comparativement aux patients HIV-1 et coinfectés (figure 3.3).

Figure 3.3: Distribution des durées de suivi des patients selon le serotype initial



Niveau de CD4 :

Tous les patients décrits ici avaient une mesure de CD4 dans les 90 jours après la date de sérologie initiale. La majorité des patients avait un niveau de CD4 en dessous de 500 (73.7% en dessous de 500 and 58.8% en dessous de 350). Une proportion plus élevée de patients HIV-1 et coinfectés avait un niveau de CD4 en dessous de 500 comparativement aux patients HIV-2 (figure 3.4 avec précision des estimations aux figures 3.5a et 3.5b).

Figure 3.4: Niveau de CD4 au moment du diagnostic VIH selon le sérotype initial

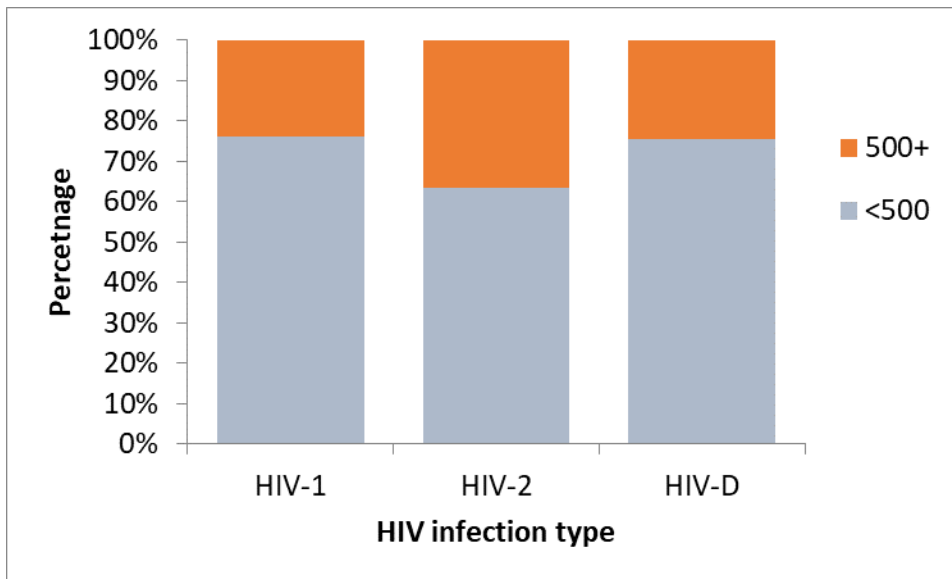


Figure 3.5a: Pourcentage (avec IC à 95%) de patients avec niveau de CD4 à l'inclusion < 500 selon le sérotype VIH initial

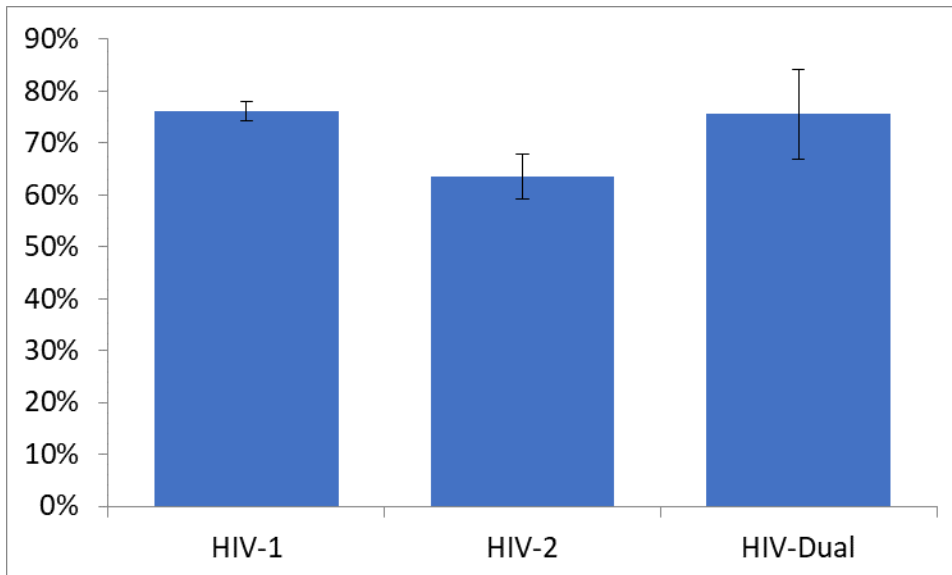
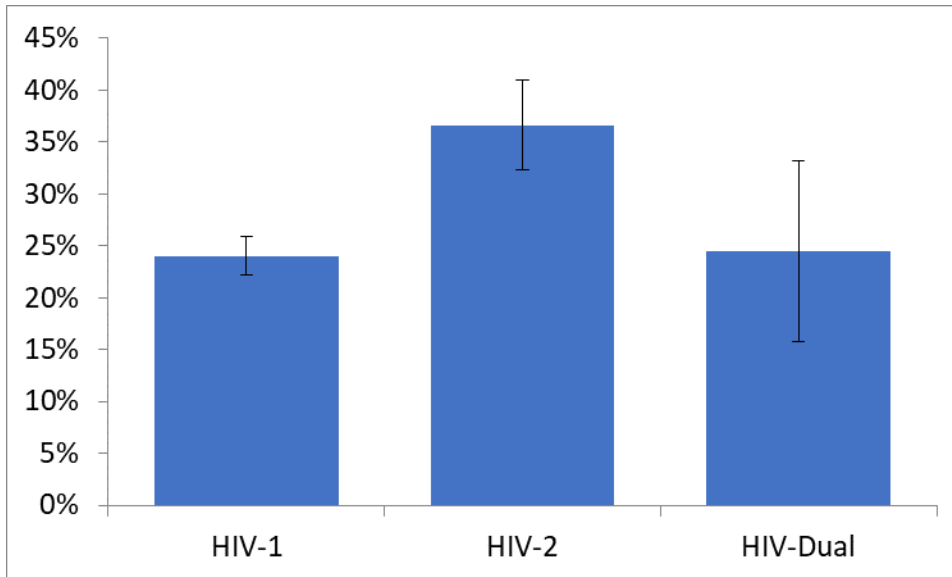


Figure 3.5b: Pourcentage (avec IC à 95%) de patients avec niveau de CD4 à l'inclusion ≥ 500 selon le sérotype VIH initial



Parmi les 2600 patients VIH décrits ici, 1241 (47.7%) avaient une seule mesure de CD4 (à l'inclusion). Le nombre moyen de mesures de CD4 par patient est de 3.7.

Un sous-groupe intéressant est celui des non progressseurs à long terme : le nombre de patients avec niveau de CD4 demeure au-dessus de 500 sur une période d'au moins cinq ans sans traitement ARV (table 3.6).

Table 3.6 Nombre de patients avec un niveau de CD4 maintenu sur le long terme au-dessus de 500 par type de VIH en l'absence de traitement ARV

	HIV-1	HIV-2	HIV-Dual
Patients avec niveau initial de CD4 ≥ 500	434	169	21
Patients avec durée de suivi ≥ 500	59	45	4
Patients avec dernier niveau de CD4 $\geq 500^*$	27	22	2

*Dernier niveau de CD4 mesuré après cinq ans de suivi

Traitement ARV :

Durant le suivi, 437 (16.8%) patients ont démarré le traitement ARV (à partir de 2004). Le pourcentage de patients ayant démarré de traitement ARV était légèrement plus élevé parmi les patients HIV-1 et coinfectés par rapport aux patients HIV-2 (18.8%, 14.9% and 11.6%, respectivement).

Mortalité :

Neuf cents vingt-deux patients (35.5%) sont décédés durant le suivi, mais les dates de décès sont en train d'être revues. Les pourcentages de patients décédés durant le suivi étaient plus élevés parmi les patients coinfectés à l'inclusion par rapport aux patients HIV-1 ou HIV-2 (45.7% versus 35.6% et 32.9% respectivement).

8.2.4. Cohorte des travailleuses du sexe de Dakar

8.2.4.1. Contexte :

La cohorte des TS de Dakar est une cohorte clinique constituée de TS recrutées à la clinique de médecine génito-urinaire de l'hôpital Aristide Le Dantec. La cohorte a débuté en 1985, en collaboration avec le Harvard School of Public Health, et avait pour objectif d'étudier l'histoire naturelle de l'infection à VIH parmi les TS légalement enregistrées à Dakar. Le travail du sexe est légal au Sénégal tant que la concernée est enregistrée auprès de l'état. L'enregistrement nécessite certaines conditions incluant des visites médicales auprès de la clinique pour subir un examen clinique de routine tous les semestres.

La cohorte des TS de Dakar regroupe les TS enregistrées pour travailler légalement à Dakar.

A l'origine, la cohorte comprenait également des TS d'autres sites (hors Dakar) à Kaolack et Ziguinchor. Il y a toujours un personnel de soutien dans ces sites où les capacités sont très réduites.

Les TS sont recrutées indépendamment de leur statut VIH, la cohorte comporte aussi bien des femmes séronégatives que des femmes séropositives. Dans cette cohorte, chaque TS positive est appariée à deux TS séronégatives. Les TS séropositives constituent une sous-

cohorte avec un suivi actif. Les TS séronégatives non appariées restent dans une cohorte plus large avec un suivi passif (par exemple, aucune tentative n'était menée pour retrouver et encourager les TS qui rataient leurs visites à y retourner). Au cours du temps, beaucoup de TS ont intégré le suivi actif à cause d'une séroconversion VIH; ainsi la majorité de la cohorte est maintenant sous suivi actif avec une évaluation clinique plus poussée.

Au cours des visites de routine, les données suivantes sont collectées :

Statut HIV :

- Déterminé par immunoblots HIV-1 et HIV-2 et par immunoblots spécifique de type^{3,4}.
- Les échantillons difficiles à caractériser sur le plan sérologique étaient testés par radioimmunoprecipitation pour les deux virus ^{3,4}.

Tests de laboratoire (CD4 et charge virale):

- Des échantillons de sang supplémentaires étaient recueillis au moins une fois par année pour la numération formule sanguine et le dosage des lymphocytes (Simultest and Becton Dickinson)^{3,4}.
- Une fois le test VIH positif, l'équipe essayait d'avoir le dosage des CD4 tous les quatre mois
- La charge virale n'était pas faite en routine. Les données retrouvées dans la base ont été obtenues à partir d'études spécifiques ou en rapport avec des tests de résistance au traitement ARV.

Données démographiques et cliniques :

- Lors de l'enregistrement comme TS, un formulaire de consentement était signé pour un suivi régulier auprès de la clinique.
- Les nouvelles inscriptions rencontraient un travailleur social qui les informait sur leurs obligations légales et leurs principaux problèmes de santé.
- A la première visite, un formulaire recueillant les données sociodémographiques et sur les facteurs de risque était rempli.
- La première consultation à l'entrée dans la cohorte incluait un examen clinique avec notification des symptômes et une sérologie VIH
- Aux visites cliniques suivantes, une fiche de consultation notifiant les différents symptômes et les résultats de l'examen clinique était remplie.

Traitement antirétroviral (ARV) :

La Clinique suivait les critères de mise sous ARV en vigueur au Sénégal.

Mortalité :

Les données de mortalité ne sont pas dans la base de données de la cohorte principale. Les données de mortalité disponibles ont été recueillies à travers différentes sources de données dont les dossiers d'hospitalisation à l'hôpital Aristide Le Dantec. D'autres décès ont été rapportés par les TS qui forment un réseau social. Ces données sont incomplètes et manquent de fiabilité : elles ne peuvent pas être analysées pour l'instant.

Pour la disponibilité des autres données, se référer au dictionnaire des données de la cohorte.

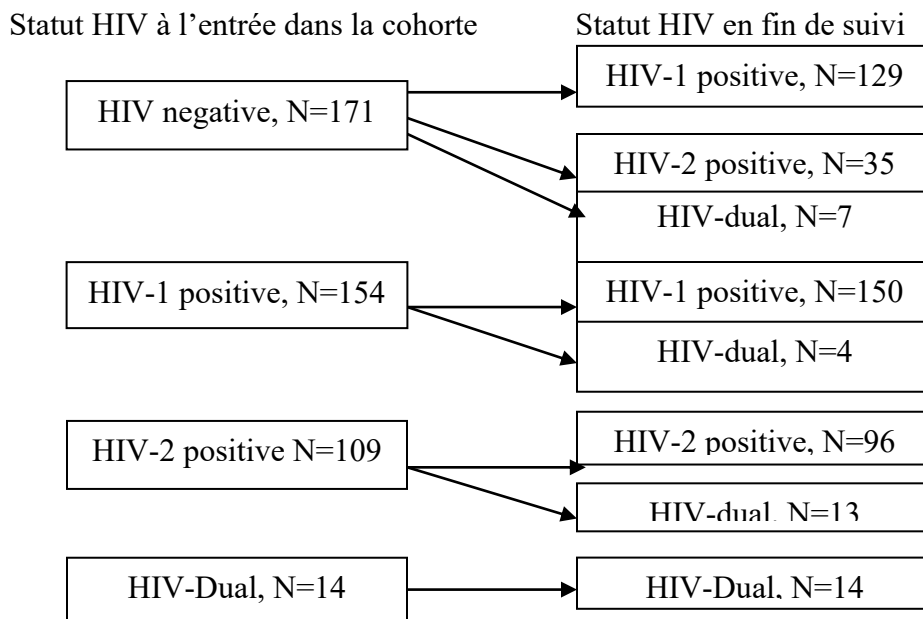
NB: L'exploration initiale des données indique qu'environ 20% des TS séropositives avaient une mesure de CD4 au moment du diagnostic (dans les 90 jours). Ce qui n'est pas conforme avec les procédures de suivi et est en train d'être exploré.

8.2.4.2. Statistiques clés:

Diagnostic :

Entre 1985 et 2008, il a été identifié 449 TS VIH (positif sur deux tests sérologiques différents) ayant au moins une mesure de CD4 durant le suivi et des dates de début et de fin de suivi. La distribution des sérotypes VIH durant le suivi est présentée à la figure 4.1.

Figure 4.1: Statut VIH des TS au début et à la fin du suivi dans la cohorte*



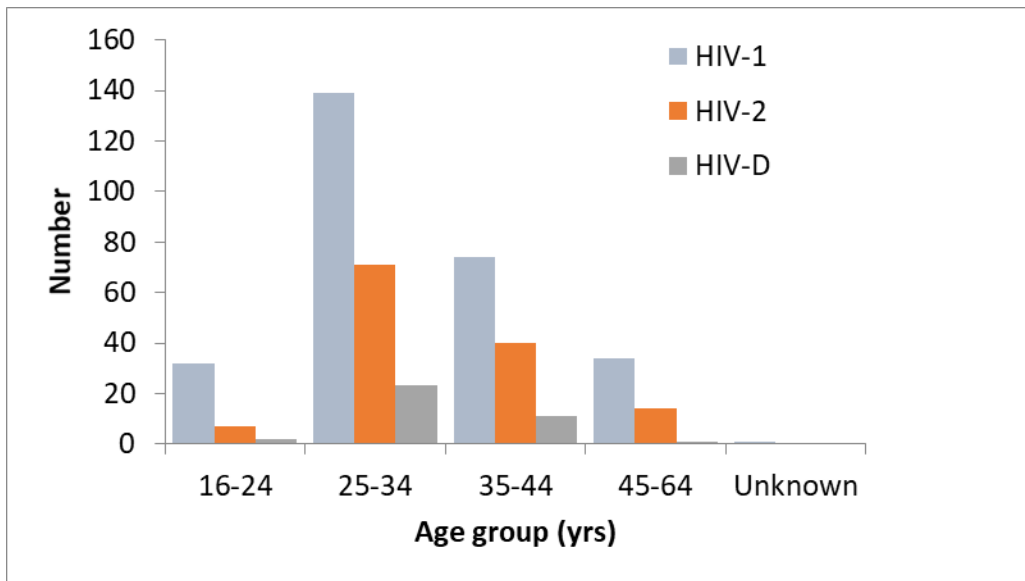
*Prend en compte seulement les individus testés VIH positifs au moins une fois durant leur suivi.

Un effectif supplémentaire de 115 HIV-1, 47 HIV-2 et 7 coinfectés ont été identifiés dans la cohorte mais n'avaient aucune mesure de CD4. Ces TS n'ont pas été décrites dans ce qui suit, cependant la disponibilité de leurs échantillons de sang pour dosage des marqueurs immunologiques pourrait les rendre utiles pour des analyses ultérieures.

Données démographiques:

La distribution de l'âge au moment du diagnostic de l'infection à VIH est présentée sur la figure 4.2.

Figure 4.2: Distribution d'âge à l'inclusion selon le sérotype initial



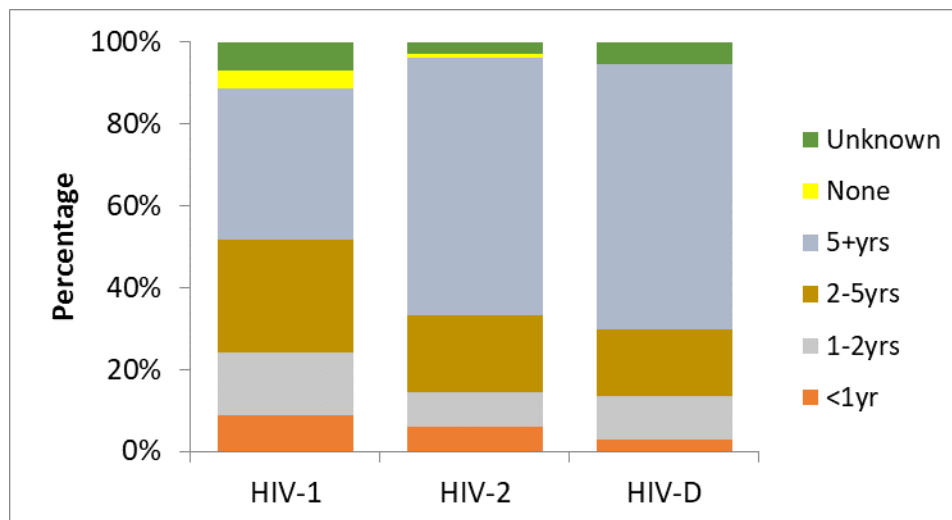
Raisons ayant motivé le test VIH :

Toutes les femmes ont été testées pour le VIH en vue de remplir leurs obligations légales pour être inscrites comme TS légales.

Suivi :

La durée de suivi moyenne (période séparant le diagnostic de la dernière visite) était de 2178.4 jours. La durée de suivi médiane était de 1789 jours variant entre 0 et 8632 jours. La durée de suivi moyenne était variable selon le sérotype VIH : 1734.9 jours pour HIV-1, 2800.4 jours pour HIV-2 and 3198.4 jours pour coinfection. Une proportion plus élevée de TS HIV-2 et coinfectées avait une durée de suivi de plus de cinq ans comparativement aux TS HIV-1 (figure 4.3). Les données de mortalité n'étant pas disponibles, la date de fin du suivi représente la date de dernière visite.

Figure 4.3: Distribution de la durée de suivi des patients selon le sérotype VIH



Niveau de CD4 :

Les données sur la distribution des CD4 à l'entrée dans la cohorte ne sont pas présentées. Parmi les 449 TS considérées, seules 88 avaient une mesure de CD4 dans les 90 jours après leur date de diagnostic VIH. Vingt autres avaient une mesure de CD4 dans les 180 jours après leur date de diagnostic. Le niveau de CD4 mesuré sur des intervalles plus longs peut ne pas refléter le statut immunitaire des TS au moment du diagnostic. Les critères qui sous-tendent la mesure du niveau de CD4 sont en train d'être étudiés afin de mieux comprendre le calendrier de la collecte des données de CD4 et comment ils pourront être utilisés dans les analyses futures.

Traitement ARV:

Les données sur le traitement ARV n'étaient pas disponibles au moment de la réalisation de ce travail.

Mortalité:

Les données sur la mortalité n'étaient pas disponibles non plus.

8.2.5. Cohorte Caio

8.2.5.1. Contexte

La surveillance démographique et les études communautaires ont débuté en 1988 dans le village de Caio dans le nord-ouest de la Guinée Bissau. Depuis cette date, des enquêtes transversales répétées ont été réalisées pour évaluer la séroprévalence du VIH-1 et du VIH-2 à Caio. Des enquêtes communautaires incluant des tests sérologiques ont été réalisées en 1989-1991, 1996-1998, 2006-2007 et 2009-2010. Les individus identifiés infectés par le VIH à partir de la première enquête ont été inclus dans une cohorte avec un suivi annuel pour obtenir le statut vital. Il leur a été proposé de faire un examen clinique avec collecte d'un échantillon de sang en 1991, 1996, 2003, 2006 et 2009. Des études additionnelles ont été réalisées sur des sous-populations de Caio avec collecte de données cliniques et biologiques supplémentaires. D'une manière générale, les données disponibles sont les suivantes :

Statut VIH :

Les tests sérologiques suivants ont été utilisés pour déterminer le statut VIH :

- 1991: impossible d'accéder à des références pour les méthodes utilisées en 1991⁵⁻⁷.
- 1996: impossible d'accéder à des références pour les méthodes utilisées en 1996⁵⁻⁷.
- 2007: Screening pour anticorps anti-HIV par ICE HIV-1.2.0 immunoassay (Murex). Confirmation infection HIV-1 ou HIV-2 par Hexagon HIV test (Human). Les échantillons avec faible positivité et double positivité ont été retestés par Pepti-Lav 1-2 (Sanofi) synthetic peptide based assay. Les résultats indéterminés ont été résolus par PCR⁸.

Tests de laboratoire (niveau de CD4 et charge virale) :

- Pour les patients VIH, des échantillons de sang ont été collectés pour les tests de laboratoire en 1991, 1996, 2003, 2006 et 2009.
- Le niveau de CD4 a été estimé en pourcentage par FACS analysis.
- La charge virale a été mesurée aux mêmes temps.
 - Impossible d'accéder à des références pour les méthodes utilisées en 1991 et 1996.
 - En 2003 et 2006, l'ARN a été extrait du plasma en utilisant un procédé de purification sur gel de silice et un aliquot amplifié dans un simple tube rétro-transcrit par PCR (Qiagen One Step, Hilden).

Collecte des données démographiques et cliniques :

- Si le sujet donne son consentement, un questionnaire sur les données démographiques et les facteurs de risque est renseigné
- Des informations supplémentaires ont été collectées dans la cohorte des infectés par le VIH pour les besoins d'études spécifiques déroulées entre les enquêtes.

Traitement ARV :

Le traitement ARV est devenu disponible après l'enquête de 2007. Cependant, il a été retenu que seules les données sur le traitement ARV collectées à partir de 2009 étaient fiables.

Données de mortalité :

Des agents de terrain réalisaient des visites chez les patients inclus pour collecter leur statut comme:

1. Vivant et toujours à Caio
2. Vivant mais a quitté Caio
3. Décédé

L'information sur les deux dernières catégories a été obtenue à partir des proches des concernés. Les dates de décès sont disponibles.

Pour la disponibilité des autres données, se référer au dictionnaire des données de la cohorte de Caio.

8.2.5.2. Statistiques clés :

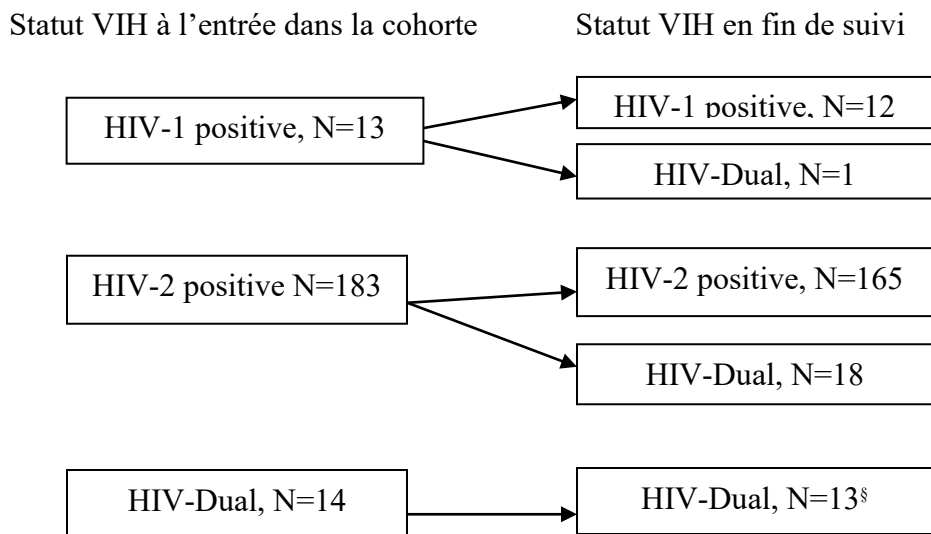
Diagnostic :

Entre 1989 et 2010, 210 individus ont été identifiés avec une infection à VIH confirmée (sérologie positive sur deux tests sérologiques différents) et avec au moins une mesure de CD4 (tous les individus avaient au moins deux mesures de pourcentage de CD4). Il a été considéré que la première mesure de CD4 a été réalisée à une date très proche de celle de la sérologie VIH et représentait le niveau de CD4 à l'entrée dans la cohorte.

Les données sérologiques de Caio viennent d'une série d'enquêtes et, de ce fait, l'infection à VIH pourrait être diagnostiquée ailleurs avant d'être confirmée avec les enquêtes de Caio.

Cependant nous avons considéré la date de première sérologie positive avec les enquêtes de Caio comme la date de diagnostic. La distribution des sérotypes VIH durant le suivi est présentée dans la figure 5.1.

Figure 5.1: Statut VIH des individus au début et à la fin du suivi*



*Prend en compte seulement les individus testés VIH positifs au moins une fois durant leur suivi.

§Inclut un individu coinfecté dont le test durant le suivi a montré un statut VIH-2

Un effectif supplémentaire de 356 individus a été testé VIH positif mais n'est pas présenté dans la suite à cause d'une absence de mesure de CD4 limitant leur potentielle inclusion dans des analyses épidémiologiques ultérieures.

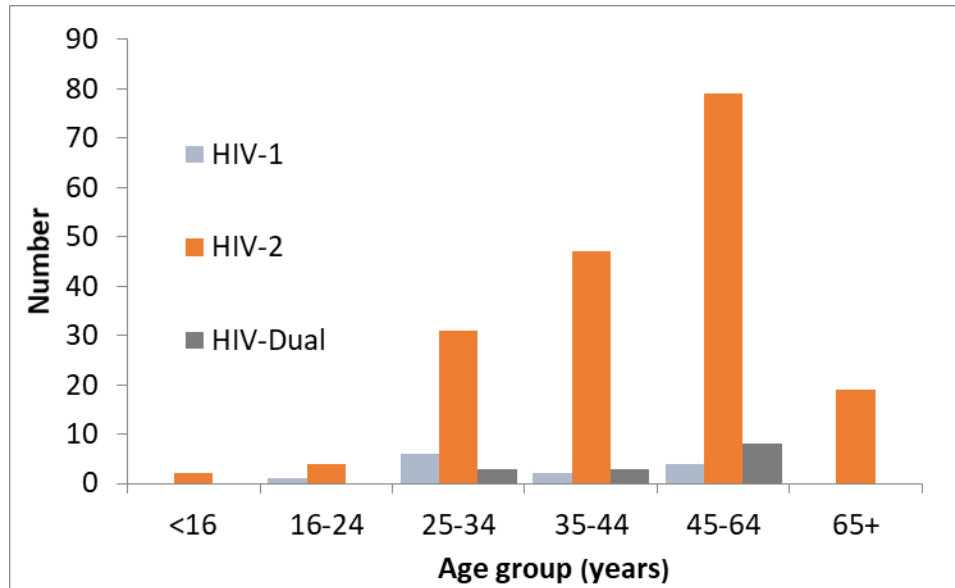
Données démographiques

La distribution d'âge et de sexe au moment du diagnostic de l'infection à VIH est présentée dans le tableau 5.1 et la figure 5.2.

Table 5.1: Âge et sexe des patients VIH au moment du diagnostic de l'infection selon le sérotype initial

Âge (ans) et sexe	HIV-1	HIV-2	Coinfection
<16 Homme	0	0	0
Femme	0	2	0
16-24 Homme	0	2	0
Femme	1	2	0
25-34 Homme	3	15	1
Femme	3	16	2
35-44 Homme	0	14	1
Femme	2	33	2
45-64 Homme	0	19	0
Femme	4	60	8
65+ Homme	0	5	0
Femme	0	14	0
Inconnu	0	1	0

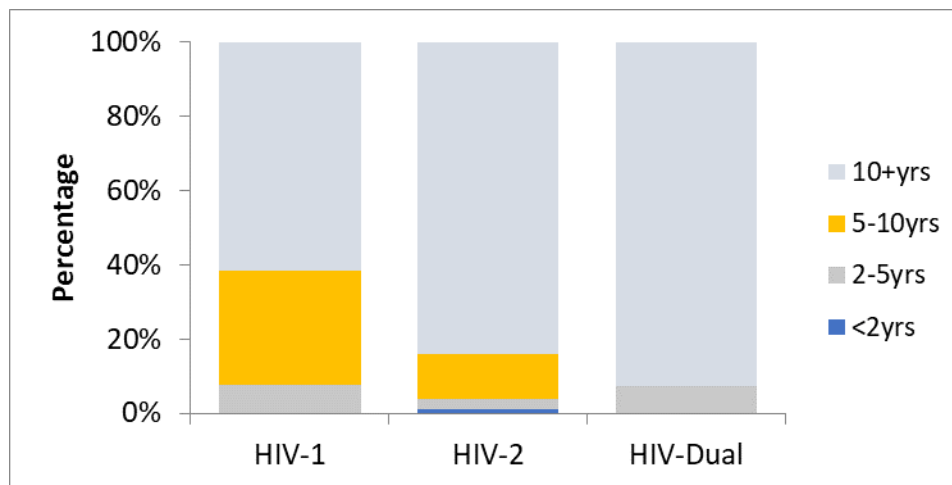
Figure 5.2: Distribution d'âge au moment du diagnostic VIH selon le sérotype initial



Suivi des patients :

La durée de suivi des individus dans la cohorte de Caio est définie par la période entre le premier test sérologique positif et le premier des événements suivants : décès, sortie de Caio ou dernier contact (attesté par une mesure de CD4). La durée moyenne de suivi était de 5147.3 jours. La durée médiane était de 4600 jours avec des extrêmes de 525 et 7570 jours. La durée moyenne de suivi était variable selon le sérotype : 3760.6 jours pour HIV-1, 5280.4 jours pour HIV-2 et 4704.2 jours pour coinfection. La majorité de patients était suivie pendant plus de cinq ans (plus de 90% pour chaque sérotype, figure 5.3), cependant les données de CD4 ne sont disponibles que pour un sous-groupe de patients sous suivi actif.

Figure 5.3: Distribution de la durée de suivi des individus selon le sérotype initial



Niveau de CD4 :

Le nombre de mesures absolues de CD4 par patient varie de 0 à cinq avec une médiane de 2 ; alors que le nombre de mesures de pourcentages de CD4 varie de 2 à 6 avec une médiane de 2. Le nombre médian de mesures de CD4 (absolues ou pourcentages) était légèrement plus élevé chez les patients dont le sérotype initial était le VIH-2 (table 5.2).

Table 5.2: Nombre moyen de mesures de CD4 durant le suivi selon le sérotype viral

Type VIH initial	Mesures absolues de CD4	Pourcentages de CD4%
HIV-1	2.1	2.3
HIV-2	2.3	2.8
HIV-D	2.1	2.4
All	2.3	2.8

L'inclusion dans le sous ensemble de données de Caio nécessitait une mesure de CD4 à l'entrée. La majorité des patients (58.4%) avait un niveau de CD4 > 500. Une proportion plus importante de VIH-1 et de VIH-2 avait un niveau de CD4 > 500 par rapport aux patients initialement coinfectés (figure 5.4, figures 5.5a et 5.5b). Globalement, 20.5% des patients avaient un niveau de CD4 à l'entrée < 350.

Figure 5.4: Niveau de CD4 au moment du diagnostic selon le sérotype initial

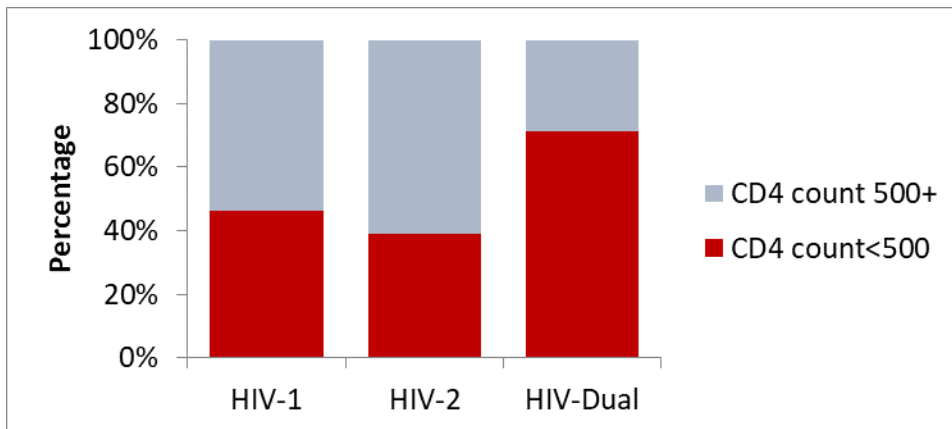


Figure 5.5a: Pourcentage (avec IC à 95%) de patients avec niveau de CD4 <500 au moment du diagnostic selon le sérotype initial

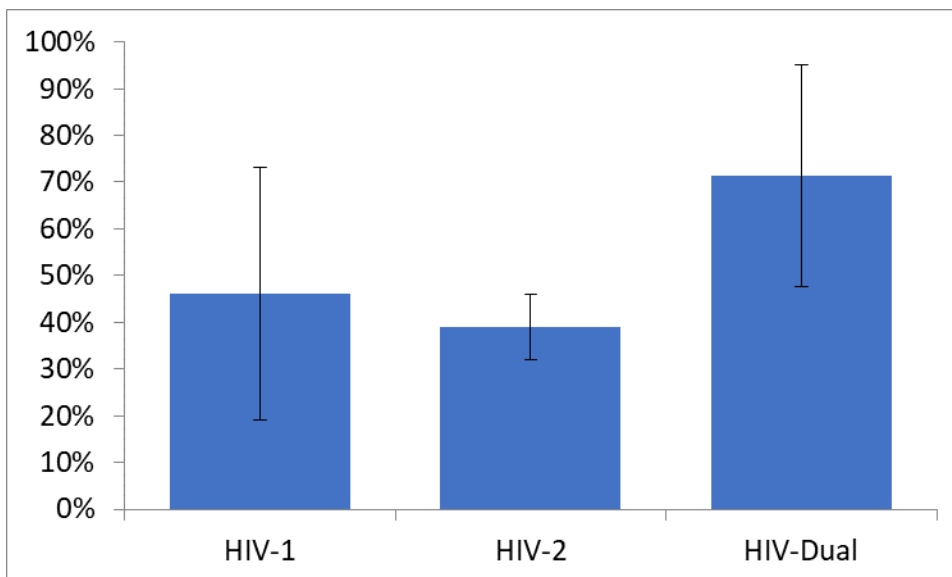
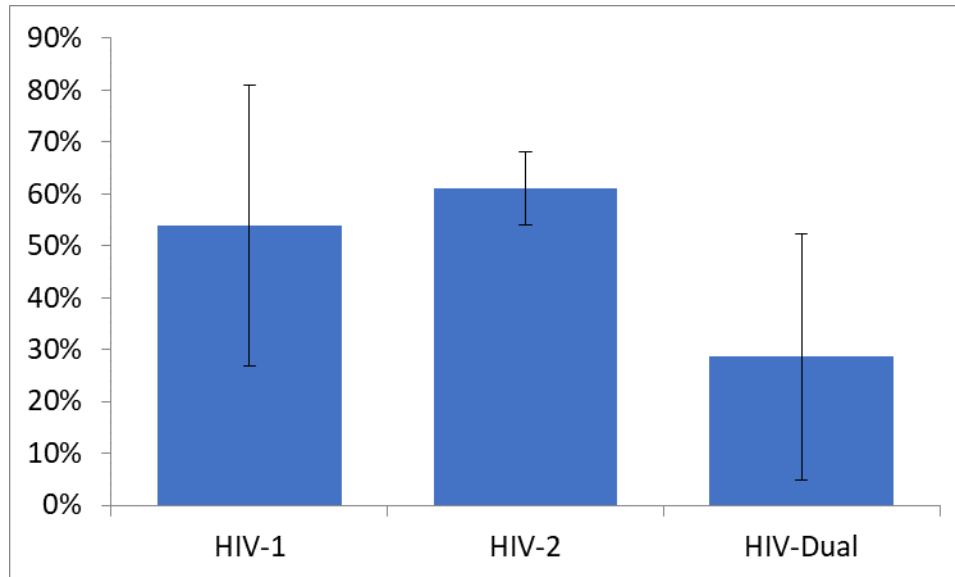


Figure 5.5b: Pourcentage (avec IC à 95%) de patients avec niveau de CD4 \geq 500 au moment du diagnostic selon le sérotype initial



Tous les patients avec mesure de CD4 avaient également au moins une mesure de charge virale durant leur suivi.

Une estimation du nombre de non progressseurs à long terme n'est pas possible avec les patients de Caio du fait de l'absence de données sur le traitement ARV. Il n'est pas possible de déterminer sur la stabilité du niveau de CD4 sur une période représente une non progression ou l'effet du traitement ARV.

Mortalité

73 (34.7%) individus sont décédés durant le suivi. La proportion de patients décédés varie très peu selon le sérotype initial.

8.2.6. Références bibliographiques :

1. Schim van der Loef MF, Jaffar S, Aveika AA, Sabally S, Corrah T, Harding E, *et al.* Mortality of HIV-1, HIV-2 and HIV-1/HIV02 dually infected patients in a clinic-based cohort in The Gambia. *AIDS*. 2002; **16**: 1775-83.
2. Schim van der Loef MF, Awasana A, Sarge-Njie R, Van der Sande M, Jaye A, Sabally S. Sixteen years of HIV surveillance in a West African research clinic

- reveals divergent epidemic trends of HIV-1 and HIV-2. *Int J Epidemiol.* 2006; **35**: 1322-8.
3. Marklink R, Kanki P, Thoir, I, Travers K, Eisen G, Siby T, *et al.* Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science.* 1994; **265**: 1587-90.
 4. Kanki PJ, Travers KU, Mboup S, Hsieh CC, Marlink RG, Gueyendiaye A, *et al.* Slower heterosexual spread of HIV-2 than HIV-1. *Lancet.* **343**: 943-46.
 5. Berry N, Jaffar S, Schim van der Loeff M, Ariyoshi K, Harding E, N’Gom PT, *et al.* Low level viremia and CD4% predicts normal survival in a cohort of HIV-type-2 infected villagers. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2002; **18**: 1167-73.
 6. Wilkins A, Ricard D, Todd J, Whittle H, Dias F, Da Silva AP. The epidemiology of HIV infection in a rural area of Guinea-Bissau. *AIDS.* 1993; **7**: 1119-22.
 7. Ricard D, Wilkins A, N’Gum PT, Hayes R, Morgan G, Da Silva AP, *et al.* The effects of HIV-2 infection in a rural area of Guinea-Bissau. *AIDS.* 1994; **8**: 977-982.
 8. Schim van der Loeff M, Larke N, Kaye S, Berry N, Ariyoshi K, Alabi A, *et al.* Undetectable plasma viral load predicts normal survival in HIV-2-infected people in a West African village. *Retrovirology.* 2010; **7**: 46.

8.3. Annexe 3 : Classifications cliniques de l'infection à VIH

8.3.1. Classification du CDC 1993

Catégorie A

Un ou plusieurs des critères listés ci-dessous chez un adulte ou un adolescent infecté par le VIH, s'il n'existe aucun des critères des catégories B et C :

- Infection VIH asymptomatique
- Lymphadénopathie persistante généralisée
- Primo-infection symptomatique

Catégorie B

Manifestations cliniques chez un adulte ou un adolescent infecté par le VIH, ne faisant pas partie de la catégorie C et qui répondent au moins à l'une des conditions suivantes :

- Angiomatose bacillaire
- Candidose oropharyngée
- Candidose vaginale, persistante, fréquente ou qui répond mal au traitement
- Dysplasie du col (modérée ou grave), carcinome in situ
- Syndrome constitutionnel : fièvre (38°5 C) ou diarrhée supérieure à 1 mois
- Leucoplasie chevelue de la langue
- Zona récurrent ou envahissant plus d'un dermatome
- Purpura thrombocytopénique idiopathique
- Listériose
- Neuropathie périphérique

Catégorie C

Cette catégorie correspond à la définition de sida chez l'adulte. Lorsqu'un sujet a présenté une des pathologies de cette liste, il est classé définitivement dans la catégorie C :

- Candidose bronchique, trachéale ou extra pulmonaire
- Candidose de l'œsophage
- Cancer invasif du col
- Coccidioidomycose disséminée ou extra pulmonaire
- Cryptococcose extra pulmonaire
- Cryptosporidiose intestinale évoluant depuis plus d'un mois
- Infection à CMV (autre que foie, rate, ganglions)
- Rétinite à CMV
- Encéphalopathie due au VIH

- Infection herpétique, ulcères chroniques supérieures à 1 mois ; ou bronchique, pulmonaire ou œsophagienne
- Histoplasmosse disséminée ou extra pulmonaire
- Isosporidiose intestinale chronique (supérieure à un mois)
- Sarcome de Kaposi
- Lymphome de Burkitt
- Lymphome immunoblastique
- Lymphome cérébrale primaire
- Infection à *Mycobacterium tuberculosis*, quelle que soit la localisation (pulmonaire ou extra pulmonaire)
- Infection à mycobactérie identifiée ou non, disséminée ou extra pulmonaire
- Pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*
- Pneumopathie bactérienne récurrente
- Leuco-encéphalite multifocale progressive
- Septicémie à salmonelle non typhi récurrente
- Syndrome cachectique dû au VIH
- Toxoplasmose cérébrale

8.3.2. Classification OMS des stades cliniques de l'infection à VIH de l'adulte

Stade clinique 1

- Asymptomatique
- Lymphadénopathie généralisée persistante

Stade clinique 2

- Perte de poids modérée inexplicée (< 10 % du poids estimé ou mesuré)
- Infections récurrentes de voies respiratoires supérieures (sinusite, amygdalite, otite moyenne et pharyngite)
- Zona
- Chéilite angulaire
- Ulcérations buccales récurrentes
- Prurigo
- Dermite séborrhéique
- Infections fongiques de l'ongle

Stade clinique 3

- Perte de poids sévère inexplicée (> 10 % du poids estimé ou mesuré)
- Diarrhée chronique inexplicée depuis plus d'un mois

- Fièvre persistante inexpliquée (plus de 37,5 °C, intermittente ou constante, depuis plus d'un mois)
- Candidose buccale persistante
- Leucoplasie chevelue de la cavité buccale
- Tuberculose pulmonaire (actuelle)
- Infections bactériennes graves (par exemple pneumonie, empyème, pyomyosite, infection ostéo-articulaire, méningite ou bactériémie)
- Stomatite ou gingivite nécrosante aiguë ou parodontite nécrosante aiguë
- Anémie (< 8 g/dl), neutropénie (< 0,5 × 10⁹ par litre) et/ou thrombocytopénie chronique (< 50 × 10⁹ par litre) inexpliquée

Stade clinique 4

- Syndrome cachectique dû au VIH
- Pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*
- Pneumonie bactérienne récurrente
- Infection herpétique chronique (bucco-labiale, génitale ou ano-rectale de durée supérieure à un mois, ou viscérale quel que soit le site)
- Candidose œsophagienne (ou candidose trachéale, bronchique ou pulmonaire)
- Tuberculose extra pulmonaire
- Sarcome de Kaposi
- Infection à cytomégalo virus (rétinite ou infection d'autres organes)
- Toxoplasmose cérébrale
- Encéphalopathie à VIH
- Cryptococcose extra pulmonaire (y compris méningite)
- Infection mycobactérienne non tuberculeuse disséminée
- Leuco encéphalopathie multifocale progressive
- Cryptosporidiose chronique
- Isosporose chronique
- Mycose disséminée (coccidioïdomycose ou histoplasmosse)
- Septicémie récurrente (y compris à *Salmonella* non typhoïdique)
- Lymphome cérébral ou lymphome non hodgkinien à cellules B
- Carcinome invasif du col de l'utérus
- Leishmaniose atypique disséminée
- Néphropathie symptomatique associée au VIH ou myocardiopathie symptomatique associée au VIH
- Encéphalopathie du VIH

8.4. Annexe 4 : Calculs des tailles d'échantillons et des puissances

8.4.1. Objectif 1

La cohorte Fajara/MRC comportait 908 PVVIH naïves de TARV avec un niveau de CD4 initial de 350/μL ou plus parmi lesquels une proportion de 61,1% avait 500 CD4/μL ou plus à l'entrée dans la cohorte. La probabilité de décès y était de 17,6%.

Selon la formule proposée par Hsieh FY et Lavori PW (2000), cet effectif est suffisant pour mettre en évidence un $HR \geq 1,5$ avec une puissance de **78%**

Formule : $N = n/p$ et $n = (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 / P(1-P)(\log \Delta)^2$

Tableau 1a Puissance et taille de l'échantillon pour un modèle de pour modèle de Cox évaluant la mortalité selon le niveau de CD4

P (%)	HR	Δ	P (%)	n	N	1- β (%)
61	1,55	0,44	18	163	906	78
61	2	0,69	18	69	381	80
61	2,5	0,92	18	40	219	80

HR = risque relatif

$\Delta = \log (HR)$

P = Pourcentage de sujets non exposés

p = Prévalence événement dans la population

n = nombre d'événements

N = Taille de l'échantillon

En utilisant la version 15 du logiciel PASS et en prenant en compte le risque compétitif, notre effectif de 908 permettait de mettre en évidence un $sHR \geq 1,5$ avec une puissance d'au moins 95%.

Tableau 1b Calcul de puissance pour un modèle de Cox prenant en compte les risques compétitifs évaluant la mortalité selon le niveau de CD4

Power	N	p1	HR	Fev1	Fev2	Fcr1	Fcr2	R	T-R	Alpha	RRow
0,96491	908	0,61	1,68320	49600	53470	1,920	0,3751	12	1	0,050	1

Beta	E	E1	E2	Pr(ev)	Pr(ev1)	Pr(ev2)	hev1	hev2	hcr1	hcr2	RRow
0,035	220,7	124,3	96,4	0,3528	0,3250	0,3964	0,0700	0,1178	0,0271	0,0826	1

Report Definitions

Power is the probability of rejecting a false null hypothesis. Power should be close to one.

N is the total sample size of both groups combined.

p1 is the proportion of the total sample size (N) that is assigned to the control group.

HR is the hazard ratio ($hev2/hev1$), the treatment group's hazard rate divided by the control group's hazard rate for the event of interest.

Fev1 and Fev2 are the cumulative incidences at time T0 for the event of interest in the control and treatment groups, respectively.

Fcr1 and Fcr2 are the cumulative incidences at time T0 for the competing risk factors in the control and treatment groups, respectively.

R is the accrual or entry time for the study.

T-R is the follow-up time for the study. T is the total time.

Alpha is the probability of rejecting a true null hypothesis. It should be small.

Beta is the probability of accepting a false null hypothesis. It should be small.

E is the total number of events required for the study.

E1 and E2 are the number of events required for the control and treatment groups, respectively.

Pr(ev) is the overall probability of observing the event of interest during the study.

Pr(ev1) and Pr(ev2) are the probability of observing the event of interest in a subject during the study for the control and treatment groups, respectively.

hev1 and hev2 are the hazard rates for the event of interest in the control and treatment groups, respectively.

hcr1 and hcr2 are the hazard rates for the competing risk factors in the control and treatment groups, respectively.

RRow is a line number assigned to allow corresponding report lines to be identified.

8.4.2. Objectif 2

Nous n'avons trouvé aucune étude qui se soit intéressée à l'association entre ESVIH et niveau de β_2m : raison pour laquelle différents scénarios ont été présentés dans le tableau suivant. La formule de Hsieh FY et al (1998) a été utilisée pour calculer les

différentes tailles d'échantillon. Ces calculs ont été confirmés par l'utilisation de la version 15 du logiciel PASS. Notre taille d'échantillon était suffisante pour mettre en évidence un $OR \geq 4,5$ avec une puissance de 80% et un alpha à 5% en test bilatéral.

Tableau 2a Calcul des tailles d'échantillon pour un modèle de régression logistique multivarié évaluant l'association entre l'ESVIH et le niveau de β_2m (catégoriel)

Power	N	%X=1	P0	P1	OR	R²	Alpha	Beta
0,79808	154	27,470	0,500	0,750	3,000	0,050	0,05000	0,20192
0,79519	162	27,470	0,500	0,750	3,000	0,100	0,05000	0,20481
0,79385	122	27,470	0,500	0,778	3,500	0,050	0,05000	0,20615
0,79756	129	27,470	0,500	0,778	3,500	0,100	0,05000	0,20244
0,79379	103	27,470	0,500	0,800	4,000	0,050	0,05000	0,20621
0,79825	109	27,470	0,500	0,800	4,000	0,100	0,05000	0,20175
0,79385	90	27,470	0,500	0,818	4,500	0,050	0,05000	0,20615
0,79385	95	27,470	0,500	0,818	4,500	0,100	0,05000	0,20615
0,79124	81	27,470	0,500	0,833	5,000	0,050	0,05000	0,20876
0,79712	86	27,470	0,500	0,833	5,000	0,100	0,05000	0,20288

Report Definitions

Power is the probability of rejecting a false null hypothesis. It should be close to one.

N is the size of the sample drawn from the population.

P0 is the response probability at the mean of X.

P1 is the response probability when X is increased to one standard deviation above the mean.

OR is the odds ratio when P1 is on top. That is, it is $[P1/(1-P1)]/[P0/(1-P0)]$.

R-Squared is the R2 achieved when X is regressed on the other independent variables in the regression.

Alpha is the probability of rejecting a true null hypothesis.

Beta is the probability of accepting a false null hypothesis.

Les calculs des tailles d'échantillons nécessaires pour mettre en évidence différentes mesures d'association (bêta) avec un alpha à 5% en bilatéral et une puissance de 80% sont présentés dans le tableau 2b. Notre taille d'échantillon n'était suffisante que pour mettre en évidence un effet $\geq 0,15$ avec une puissance de 80% et un alpha à 5% en test bilatéral.

Tableau 2b Calcul des tailles d'échantillon pour un modèle de régression linéaire multivarié évaluant l'association entre l'ESVIH et le niveau de β_2m (continu)

Power	N	kc	k_T	Effect f²	Alpha	Beta
0,8014	250	3	4	0,050	0,050	0,1986
0,8005	130	3	4	0,100	0,050	0,1995
0,8050	91	3	4	0,150	0,050	0,1950
0,8059	71	3	4	0,200	0,050	0,1941
0,8068	59	3	4	0,250	0,050	0,1932
0,8077	51	3	4	0,300	0,050	0,1923
0,8053	45	3	4	0,350	0,050	0,1947

Report Definitions

Power is the probability of rejecting a false null hypothesis.

N is the number of observations on which the multiple regression is computed.

kc is the number of independent variables controlled.

km is the number of independent variables tested.

Ind. Variables Controlled are those variables whose influence is removed from experimental error.

Ind. Variables Tested are those variables whose regression coefficients are tested against zero.

f² is the effect size. It is calculated using $f^2 = \rho^2 / (1 - \rho^2)$.

ρ^2 is squared multiple correlation coefficient of the variables begin tested.

Cohen's f² interpretation: 0.02 = small, 0.15 = medium, 0.35 = large.

Alpha is the probability of rejecting a true null hypothesis. It should be small.

Beta is the probability of accepting a false null hypothesis. It should be small.

8.4.3. Objectif 3

Nous n'avons trouvé dans la littérature aucune étude sur l'association entre la VCV et le niveau de β_2m . Le tableau 3a présente les calculs des tailles d'échantillon pour mettre en évidence différents OR avec une puissance de 80% et un risque de 1^e espèce de 5% en bilatéral. La formule de Hsieh FY et al (1998) a été utilisée pour réaliser ces calculs. Les résultats ont été confirmés par l'utilisation de la version 15 du logiciel PASS. Notre taille d'échantillon était suffisante pour mettre en évidence un $OR \geq 4$ avec une puissance de 80% et un alpha à 5% en test bilatéral.

Tableau 3a Calcul des tailles d'échantillon pour un modèle de régression logistique multivarié évaluant l'association entre la VCV et le niveau de β_2m (catégoriel)

Power	N	%X=1	P0	P1	OR	R2	Alpha	Beta
0,79856	194	65,300	0,500	0,714	2,500	0,100	0,05000	0,20144
0,79856	205	65,300	0,500	0,714	2,500	0,150	0,05000	0,20144
0,79856	218	65,300	0,500	0,714	2,500	0,200	0,05000	0,20144
0,79809	138	65,300	0,500	0,750	3,000	0,100	0,05000	0,20191
0,79809	146	65,300	0,500	0,750	3,000	0,150	0,05000	0,20191
0,79809	155	65,300	0,500	0,750	3,000	0,200	0,05000	0,20191
0,79888	109	65,300	0,500	0,778	3,500	0,100	0,05000	0,20112
0,79488	115	65,300	0,500	0,778	3,500	0,150	0,05000	0,20512
0,79488	122	65,300	0,500	0,778	3,500	0,200	0,05000	0,20512
0,79394	91	65,300	0,500	0,800	4,000	0,100	0,05000	0,20606
0,79394	96	65,300	0,500	0,800	4,000	0,150	0,05000	0,20606
0,79394	102	65,300	0,500	0,800	4,000	0,200	0,05000	0,20606
0,79680	79	65,300	0,500	0,818	4,500	0,100	0,05000	0,20320
0,79680	84	65,300	0,500	0,818	4,500	0,150	0,05000	0,20320
0,79680	89	65,300	0,500	0,818	4,500	0,200	0,05000	0,20320
0,79396	71	65,300	0,500	0,833	5,000	0,100	0,05000	0,20604
0,79396	75	65,300	0,500	0,833	5,000	0,150	0,05000	0,20604
0,79396	79	65,300	0,500	0,833	5,000	0,200	0,05000	0,20604

Report Definitions

Power is the probability of rejecting a false null hypothesis. It should be close to one.

N is the size of the sample drawn from the population.

P0 is the response probability at the mean of X.

P1 is the response probability when X is increased to one standard deviation above the mean.

OR is the odds ratio when P1 is on top. That is, it is $[P1/(1-P1)]/[P0/(1-P0)]$.

R-Squared is the R2 achieved when X is regressed on the other independent variables in the regression.

Alpha is the probability of rejecting a true null hypothesis.

Beta is the probability of accepting a false null hypothesis.

Les calculs des tailles d'échantillons nécessaires pour mettre en évidence différentes mesures d'association (bêta) avec un alpha à 5% en bilatéral et une puissance de 80% sont présentés dans le tableau 3b. Notre taille d'échantillon n'était suffisante que pour mettre en évidence un effet $\geq 0,25$ avec une puissance de 80% et un alpha à 5% en test bilatéral.

Tableau 3b Calcul des tailles d'échantillon pour un modèle de régression linéaire multivarié évaluant l'association entre la VCV et le niveau de β_{2m} (continu)

Power	N	kc	kr	Effect f²	Alpha	Beta
0,8015	319	7	8	0,050	0,050	0,1985
0,8005	168	7	8	0,100	0,050	0,1995
0,8010	118	7	8	0,150	0,050	0,1990
0,8016	93	7	8	0,200	0,050	0,1984
0,8021	78	7	8	0,250	0,050	0,1979
0,8026	68	7	8	0,300	0,050	0,1974
0,8045	61	7	8	0,350	0,050	0,1955

Report Definitions

Power is the probability of rejecting a false null hypothesis.

N is the number of observations on which the multiple regression is computed.

kc is the number of independent variables controlled.

km is the number of independent variables tested.

Ind. Variables Controlled are those variables whose influence is removed from experimental error.

Ind. Variables Tested are those variables whose regression coefficients are tested against zero.

f^2 is the effect size. It is calculated using $f^2 = \rho^2 / (1 - \rho^2)$.

ρ^2 is squared multiple correlation coefficient of the variables begin tested.

Cohen's f^2 interpretation: 0.02 = small, 0.15 = medium, 0.35 = large.

Alpha is the probability of rejecting a true null hypothesis. It should be small.

Beta is the probability of accepting a false null hypothesis. It should be small.

8.5. Annexe 5: Cadres conceptuels

8.5.1. Objectif 1

Nous pensons qu'aucune variable parmi les potentiels facteurs de confusion ait un simple effet intermédiaire. Par conséquent, il est justifié d'évaluer leur potentiel effet de confusion.

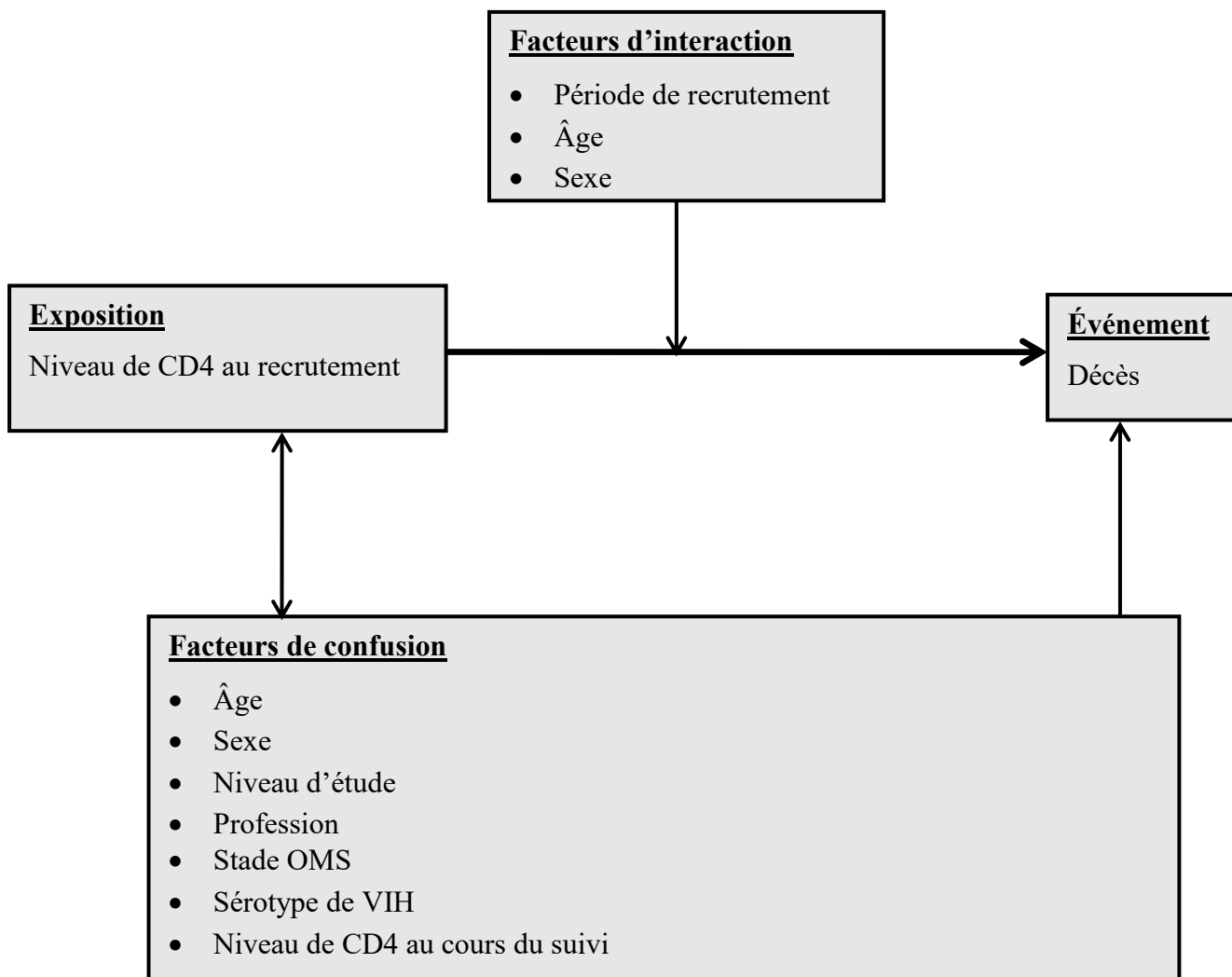


Figure 1.a. Cadre conceptuel de l'étude de l'association entre niveau de CD4 et mortalité

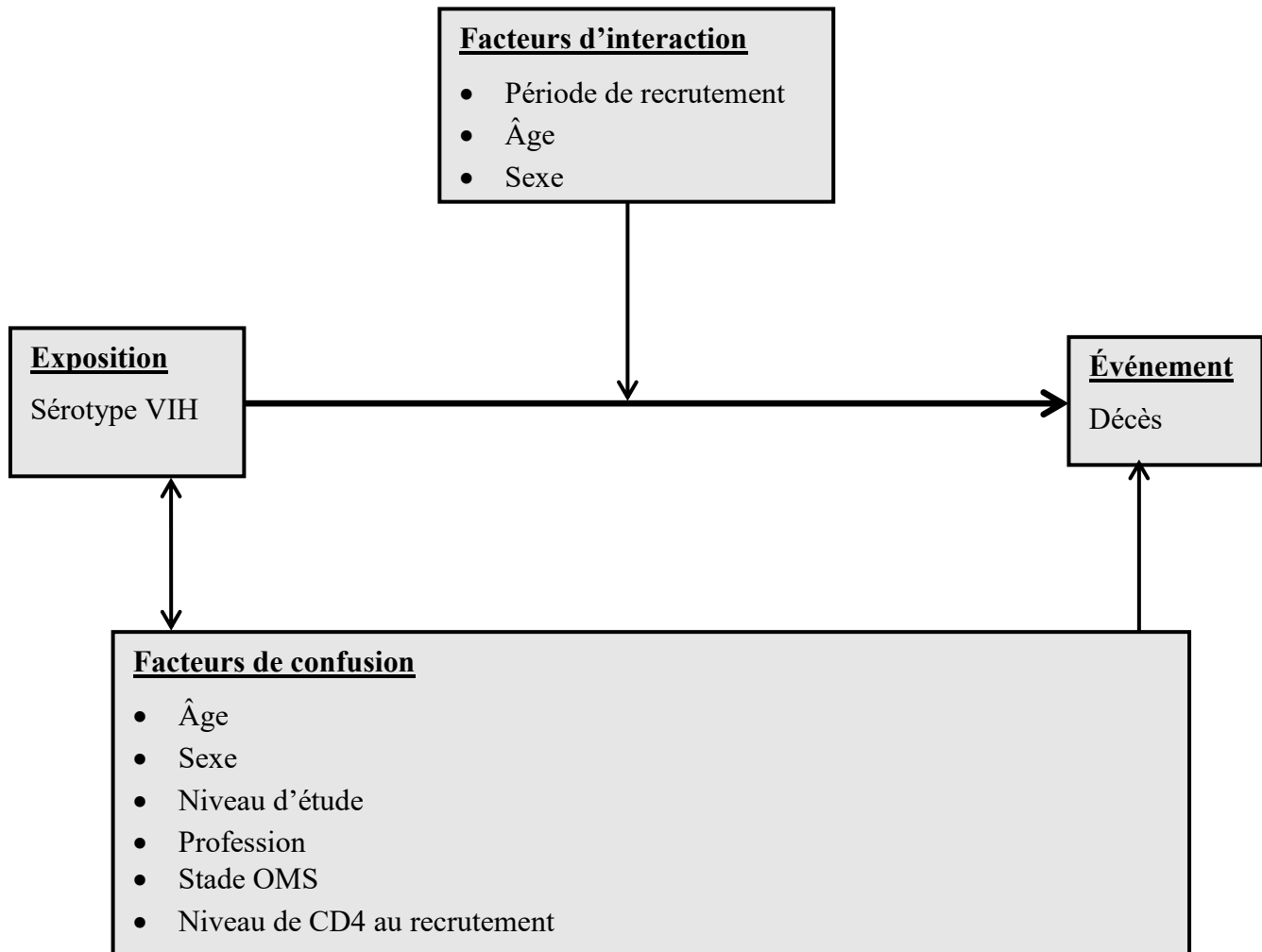


Figure 1.b. Cadre conceptuel de l'étude de l'association entre sérotype de VIH et mortalité

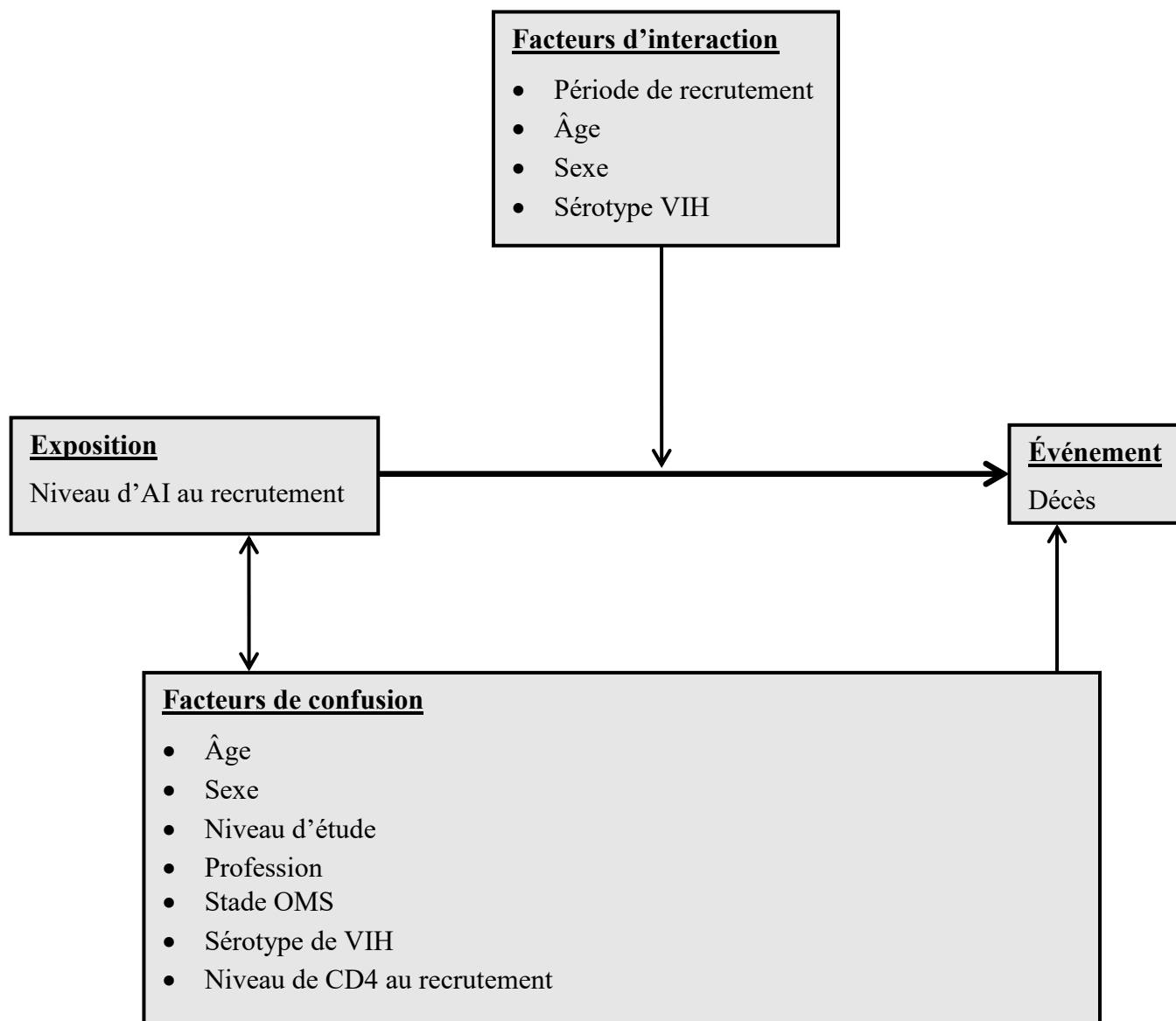


Figure 1.c. Cadre conceptuel de l'étude de l'association entre activation immunitaire et mortalité

Tableau 1. Variables à l'étude sur la base des cadres conceptuels de l'objectif 1

Problématiques	1.a Niveau de CD4 et mortalité	1.b Type de VIH et mortalité	1.c Activation immunitaire et mortalité
Événement	Décès : dichotomique (oui, non)	Décès : dichotomique (oui, non)	Décès : dichotomique (oui, non)
Exposition	Niveau de CD4 au recrutement : dichotomique (entre 350 et 499, ≥ 500)	Type de VIH : trois catégories (VIH-1, VIH-2, VIH-1 + VIH-2)	Niveau de $\beta 2m$: continu et dichotomisé ($< 2,85$, $\geq 2,85$)
Variables d'ajustement	<ul style="list-style-type: none"> - Âge : continu et catégorisé (16-24, 25-30, 31-38, 39-76) - Sexe : dichotomique (homme, femme) - Niveau d'étude (aucun, primaire, secondaire, universitaire) - Profession : quatre catégories (sans, travailleur informel, employé salarié, cadre salarié) - Stade OMS : 2 catégories (stade 1-2, stade 3-4) - Sérotype VIH : trois catégories (VIH-1, VIH-2, VIH-1 + VIH-2) - Période de recrutement : dichotomique (avant 2004, après 2004) - Niveau de CD4 durant le suivi : continu et catégorisé (time dependant) 	<ul style="list-style-type: none"> - Âge : continu et catégorisé (16-24, 25-30, 31-38, 39-76) - Sexe : dichotomique (homme, femme) - Niveau d'étude (aucun, primaire, secondaire, universitaire) - Profession : quatre catégories (sans, travailleur informel, employé salarié, cadre salarié) - Stade OMS : 2 catégories (stade 1-2, stade 3-4) - Période de recrutement : dichotomique (avant 2004, après 2004) - Niveau de CD4 au recrutement : dichotomique (entre 350 et 499, ≥ 500) 	<ul style="list-style-type: none"> - Âge : continu et catégorisé (16-24, 25-30, 31-38, 39-76) - Sexe : dichotomique (homme, femme) - Niveau d'étude (aucun, primaire, secondaire, universitaire) - Profession : quatre catégories (sans, travailleur informel, employé salarié, cadre salarié) - Stade OMS : 2 catégories (stade 1-2, stade 3-4) - Sérotype VIH : trois catégories (VIH-1, VIH-2, VIH-1 + VIH-2) - Période de recrutement : dichotomique (avant 2004, après 2004) - Niveau de CD4 au recrutement : dichotomique (entre 350 et 499, ≥ 500)

8.5.1. Objectif 2

Nous pensons qu'aucune variable parmi les potentiels facteurs de confusion ait un simple effet intermédiaire. Par conséquent, il est justifié d'évaluer leur potentiel effet de confusion.

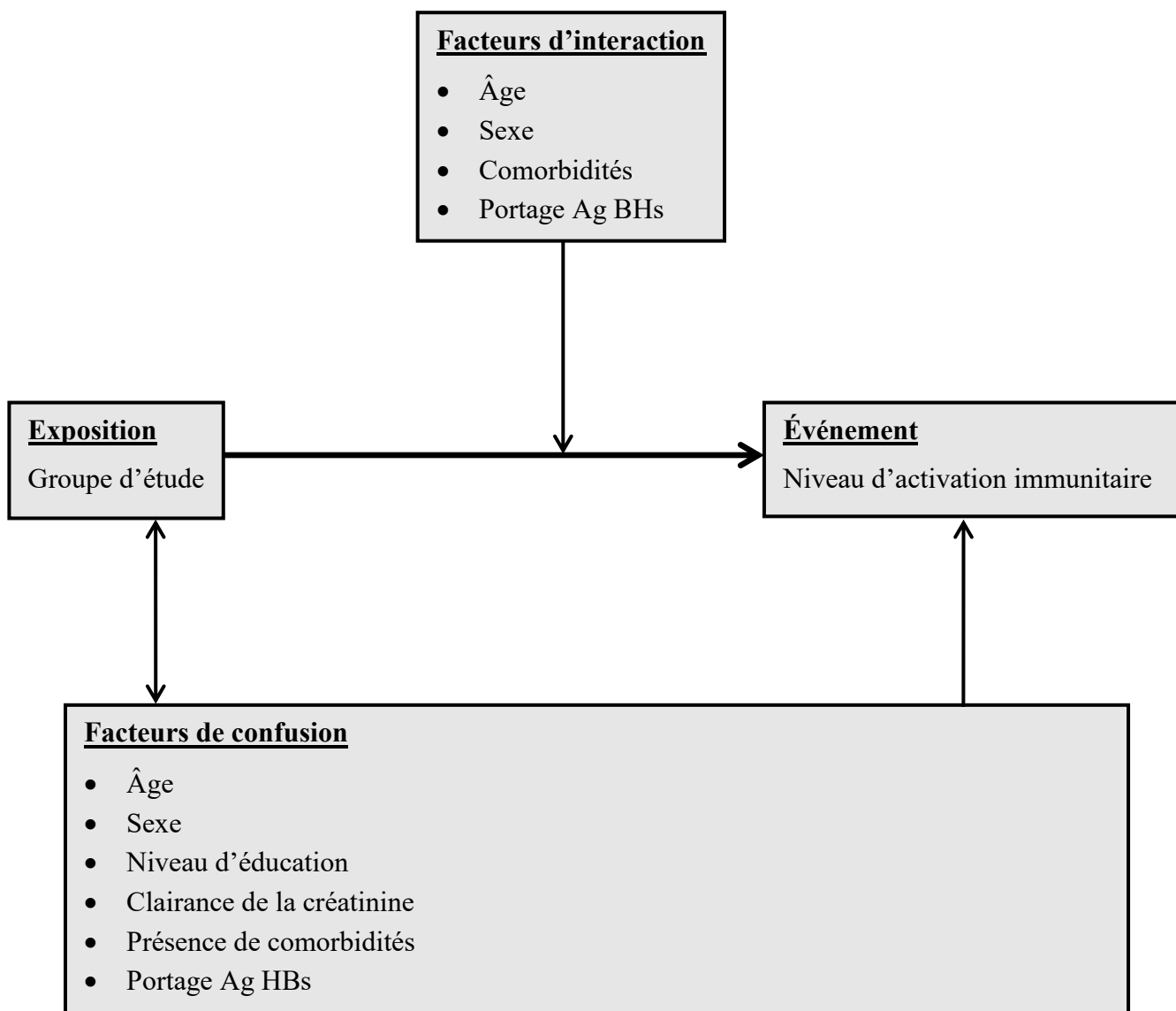


Figure 2a. Cadre conceptuel de l'étude de l'association entre le groupe d'étude et activation immunitaire

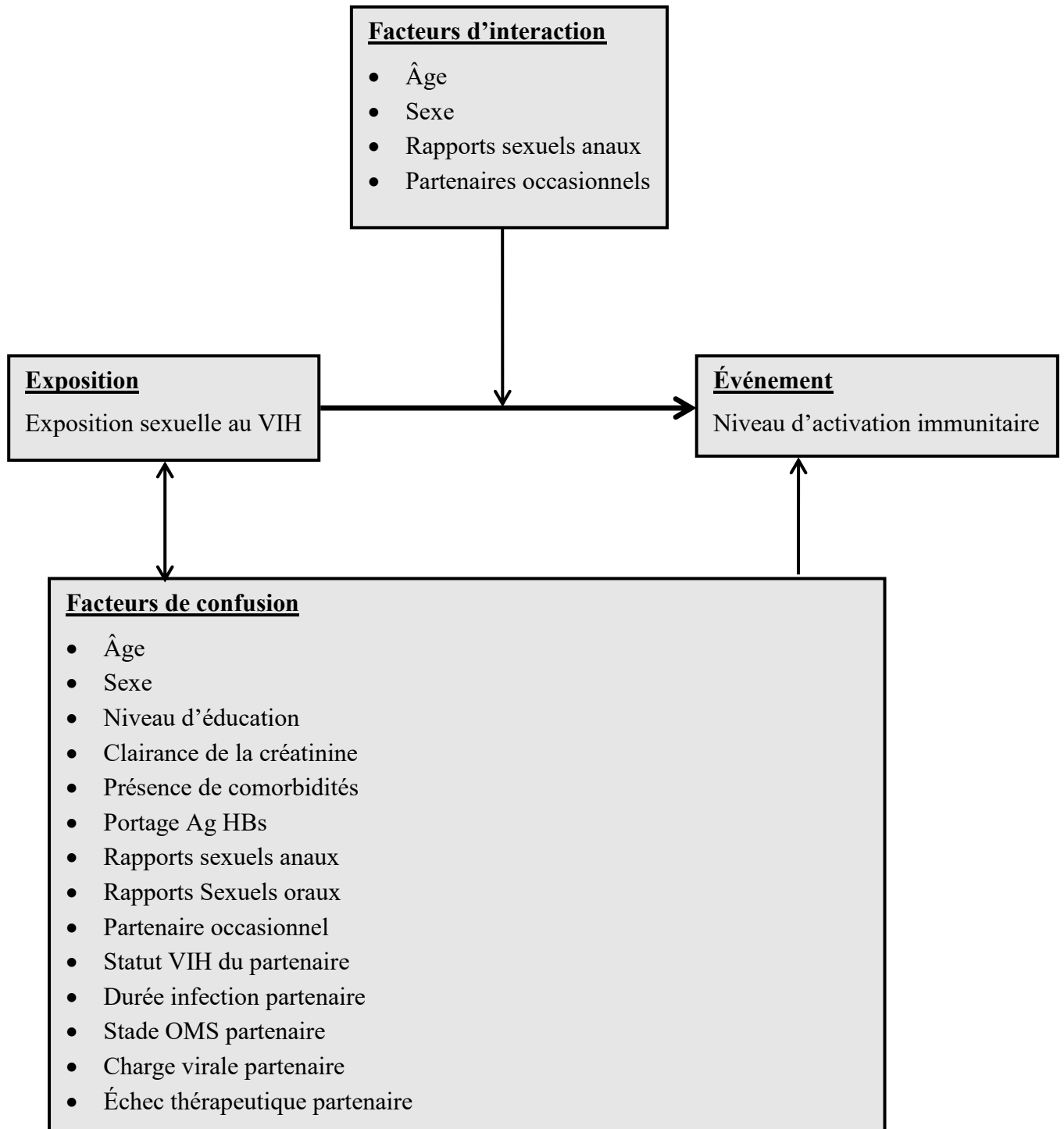


Figure 2b. Cadre conceptuel de l'étude de l'association entre l'exposition sexuelle au VIH et l'activation immunitaire

Tableau 2. Variables à l'étude sur la base des cadres conceptuels de l'objectif 2

Problématiques	Niveau de $\beta 2m$ des ESN par rapports aux PVVIH et aux contrôles non infectés non exposés	Exposition sexuelle au VIH et B2M
Événement	Niveau de $\beta 2m$: continu et dichotomisé ($< 2,02$, $\geq 2,02$)	Niveau de $\beta 2m$: continu et catégorisé ($< 1,02$ vs $\geq 1,48$ et $< 2,20$ vs $\geq 2,20$)
Exposition	Groupe d'étude : non exposés non infectés, ESN, PVVIH	Nombre de rapports sexuels non protégés par mois : catégorisé (présence versus absence et ≥ 2 vs < 2 dichotomique ($< \text{médiane}$, $\geq \text{médiane}$))
Variables d'ajustement	<ul style="list-style-type: none"> - Âge : continu et catégorisé (18-32, 33-39, 40-49, 50-58) - Sexe : dichotomique (homme, femme) - Niveau d'étude (aucun, primaire, secondaire, universitaire) - Clairance de la créatinine : continu - Présence de comorbidités : dichotomique (oui, non) - Portage de l'Ag HBs : dichotomique (oui, non) 	<ul style="list-style-type: none"> - Âge : continu et catégorisé (18-32, 33-39, 40-49, 50-58) - Sexe : dichotomique (homme, femme) - Niveau d'étude (aucun, primaire, secondaire, universitaire) - Clairance de la créatinine : continu - Présence de comorbidités : dichotomique (oui, non) - Portage de l'Ag HBs : dichotomique (oui, non) - Rapports sexuels anaux : dichotomique (oui, non) - Rapports sexuels oraux : dichotomique (oui, non) - Partenaire occasionnel : dichotomique (oui, non) - Statut VIH partenaire : dichotomique (VIH+, VIH-) - Durée infection partenaire (continu) - Stade OMS : 2 catégories (stade 1-2, stade 3-4) - Charge virale partenaire (continu) - Échec thérapeutique partenaire : dichotomique (oui, non)

8.5.1. Objectif 3

Nous pensons qu'aucune variable parmi les potentiels facteurs de confusion ait un simple effet intermédiaire. Par conséquent, il est justifié d'évaluer leur potentiel effet de confusion.

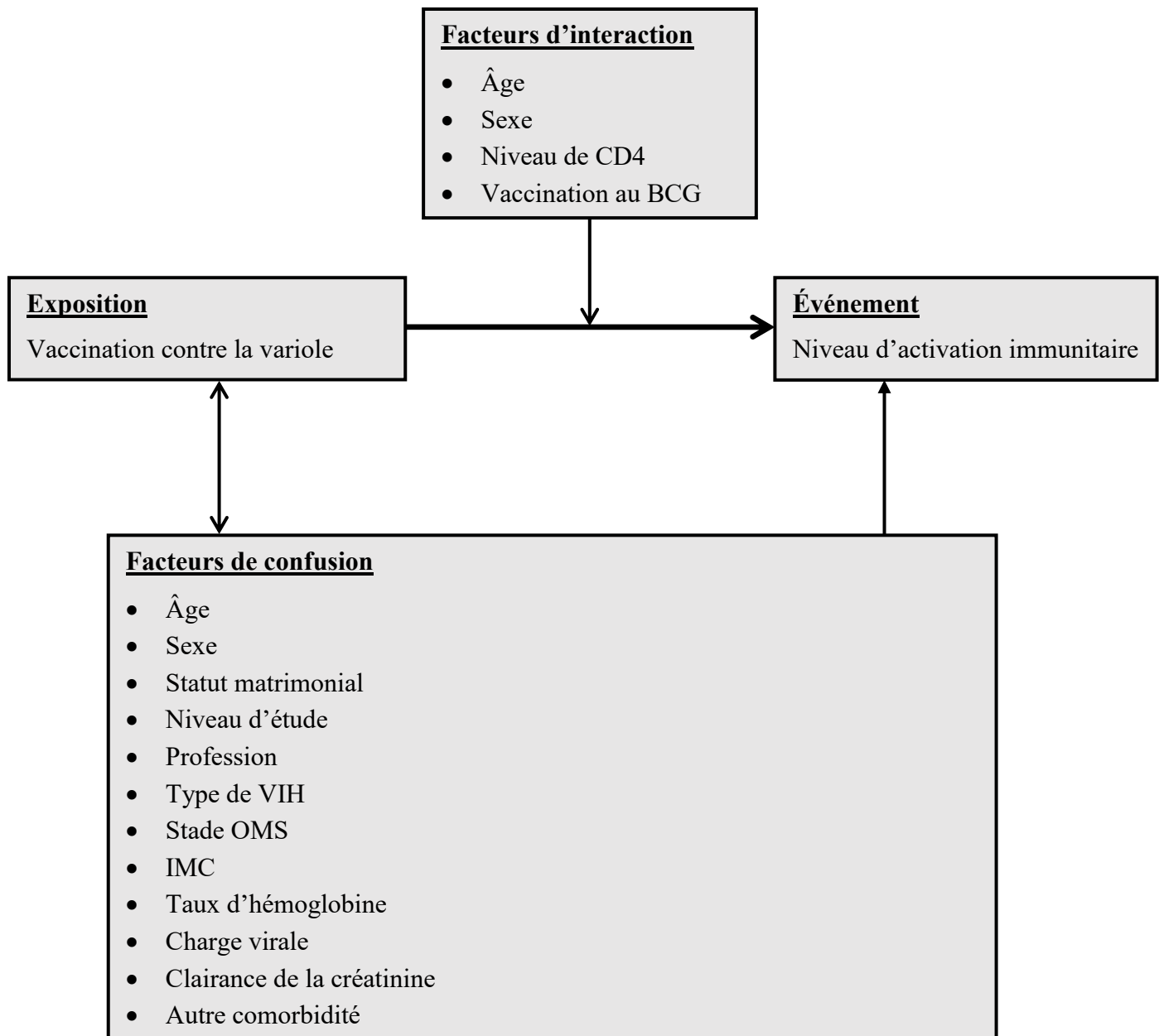


Figure 3. Cadre conceptuel de l'étude de l'association entre vaccination contre la variole et l'activation immunitaire

Tableau 3. Variables à l'étude sur la base du cadre conceptuel de l'objectif 3

Problématiques	Vaccination contre la variole et B2M
Variable dépendante	Niveau de $\beta 2m$: continu ou catégoriel ($\geq 2,59$ vs $< 2,59$ et $\geq 4,93$ vs $< 4,93$)
Variable indépendante principale	Présence de cicatrice de VCV : dichotomique (oui, non)
Variables indépendantes secondaires	<ul style="list-style-type: none"> - Âge : continu et catégorisé (35-45, 46-55, 56-66) - Sexe : dichotomique (homme, femme) - Niveau d'étude (aucun, primaire, secondaire, universitaire) - Statut matrimonial (célibataire, marié, divorcé, veuf) - Profession : quatre catégories (sans, travailleur informel, employé salarié, cadre salarié) - Stade OMS : 2 catégories (stade 1-2, stade 3-4) - IMC : continu et catégorisé (< 18.5, $18.5-24.9$, ≥ 25) - Type de VIH : trois catégories (VIH-1, VIH-2, VIH-1 + VIH-2) - Taux d'hémoglobine : continu et dichotomisé (< 10, ≥ 10) - Charge virale : continu - Clairance de la créatinine (continu) - Autre comorbidité : dichotomique (oui, non) - Cicatrice BCG : dichotomique (oui, non)

8.6. Annexe 6 : Formulaire de recueil des données pour l'objectif 2

Code patient: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_| Date consultation: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Prénom et nom clinicien: _____

Age : |_|_|_|_| ans

Sexe : Masculin ☐ Féminin ☐

Poids |_|_|_|_|_|, |_|_| kg

Taille |_|_|_|_|_| m

Pression artérielle systolique / diastolique |_|_|_|_|_| / |_|_|_|_|_| mm.Hg

INFECTION A VIH

✓ Statut VIH : Positif ☐ Négatif ☐ ;

○ Si positif : Profil : VIH 1 ☐ VIH 2 ☐ VIH 1+2 ☐

✓ Date de la 1^{ère} sérologie VIH positive : |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

○ Profil : VIH 1 ☐ VIH 2 ☐ VIH 1+2 ☐

✓ Date de la dernière sérologie VIH : |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

○ Profil : VIH 1 ☐ VIH 2 ☐ VIH 1+2 ☐

ANTECEDENTS LIES AU VIH

✓ Stade OMS : Stade 1 ☐ Stade 2 ☐ Stade 3 ☐ Stade 4 ☐

CO-MORBIDITE : ☐ Oui ☐ Non Si oui, préciser

○ CMV ☐ Diabète ☐ HTA ☐ MCV ☐ IRC ☐

○ VHB ☐ VHC ☐ AVC ☐ Autre, préciser :

TRAITEMENTS

✓ **Prophylaxie au cotrimoxazole :** ☐ Oui ☐ Non

✓ **Prophylaxie à l'isoniazide :** ☐ Oui ☐ Non

✓ **Traitement antirétroviral :** ☐ Oui ☐ Non

Si **traitement ARV**, préciser schéma thérapeutique à J0 :

○ **INTI** : ☐ 3TC ☐ AZT ☐ D4T ☐ DDI ☐ TDF ☐ ABC ☐ FTC

○ **INNTI**: ☐ EFZ ☐ NVP ☐ ETV

○ **IP**: ☐ IDV ☐ LPV ☐ NFV ☐ RTV ☐ ATZ ☐ T20 ☐ DRV

Modifications du Traitement ARV

Date	ARV arrêté	ARV introduit	Raison	Commentaire
<input type="text"/>				
<input type="text"/>				
<input type="text"/>				
<input type="text"/>				
<input type="text"/>				

8.7. Annexe 7 : Formulaire de recueil des données pour l'objectif 3

FICHE D'ÉVALUATION CLINIQUE ET PARACLINIQUE

Critère d'inclusion

Toutes les questions doivent être répondues pour recruter le patient:

1. Le patient est naïf (pas initié les ARV) ☐ Oui ☐ Non

Numéro patient: | | | | | | | | Date de la consultation: | | | | |

Prénom et nom clinicien: _____

Âge : | | | ans

Sexe : Masculin ☐ Féminin ☐

Poids | | | | |, | | kg

Taille | | |, | | | m

Pression artérielle systolique / diastolique | | | | | / | | | | | mm Hg

Prélèvement sanguin effectué pour B2M
(envoyer envoyé au laboratoire)

☐ Oui ☐ No

STATUT SOCIOÉCONOMIQUE

✓ Adresse : _____

✓ Statut matrimonial : Célibataire ☐ Marié ☐ Veuf ☐ Divorcé ☐

✓ Profession : _____

✓ Type d'instruction : français ☐ arabe ☐ langue nationale ☐ Autre ☐

✓ Niveau d'instruction : non instruit ☐ primaire ☐ moyen/secondaire ☐
supérieur ☐

INFECTION À VIH

✓ Statut VIH : VIH 1 ☐ VIH 2 ☐ VIH 1+2 ☐

✓ Stade OMS : Stade 1 ☐ Stade 2 ☐ Stade 3 ☐ Stade 4 ☐

ANTÉCÉDENT DE VARIOLE

Oui ☐ Non ☐ Ne sait pas ☐

VACCINATIONS

✓ Carnet de vaccination

○ Disponible : Oui ☐ Non ☐

○ Si oui vaccination variole : Oui ☐ Non ☐ BCG : Oui ☐ Non ☐

✓ Examen cicatrices de vaccination : examinateur 1

○ Cicatrice de vaccination variole : Oui ☐ Non ☐

○ Si oui nombre de cicatrices : ____ Diamètre plus grande cicatrice : ____ mm

○ Cicatrice de BCG : Oui ☐ Non ☐

✓ Examen cicatrices de vaccination : examinateur 2

○ Cicatrice de vaccination variole : Oui ☐ Non ☐

○ Si oui nombre de cicatrices : ____ Diamètre plus grande cicatrice : ____ mm

○ Cicatrice de BCG : Oui ☐ Non ☐

CO-MORBIDITÉS

☐ Oui ☐ Non Si oui, préciser

CMV ☐ Diabète ☐ HTA ☐ MCV ☐ IRC ☐

VHB ☐ VHC ☐ AVC ☐ Autre, préciser :

SUIVI CLINIQUE

Date	Suivi	Poids (kg)	Niveau de CD4	CV (copies/ml)

BIOLOGIE

- ✓ Date de prélèvement : |__|__| |__|__| |__|__||__|__|
- ✓ Taux d'Hb : |__|__|, |__| g/dl
- ✓ Taux de Prothrombine : |__|__|__| %
- ✓ Lymphocytes totaux : |__|__|__|__|__|
- ✓ Neutrophiles : |__|__|__|__|__|/μL
- ✓ Plaquettes : |__|__|__|__|__|__|/ml
- ✓ ASAT : |__|__|__|, |__| UI/l ALAT : |__|__|__|, |__| UI/l
- ✓ Créatininémie : |__|__|__|, |__| mg/l Glycémie à jeun : |__|, |__| g/l
- ✓ Cholestérolémie : |__|__|__|, |__| g/l Triglycéridémie : |__|, |__| g/l
- ✓ Cholestérol HDL : |__|__|__|, |__| g/l Cholestérol LDL : |__|__|__|, |__| g/l
- ✓ Ag HBs : Oui ☐ Non ☐ Ac anti-VHC : Oui ☐ Non ☐
- ✓ Niveau de CD4 : |__|__|__|__|__|/μl
- ✓ ARN VIH : |__|__|__|__|__|__|__|__| copies/ml
- ✓ Béta 2 microglobuline : |__|__|__|, |__| mg/l